

Leiden
1958

lane

DE COMPLEMENTBINDINGSREACTIE
BIJ POLIOMYELITIS

J. M. BORGHANS-DELVAUX

STANFORD-LANE MEDICAL LIBRARY

**DE COMPLEMENTBINDINGSREACTIE
BIJ POLIOMYELITIS**

Uit de Afdeling voor Medische Microbiologie van het Nederlands Instituut voor
Praeventieve Geneeskunde te Leiden. Hoofd: Prof. Dr. J. D. Verlinde.

DE COMPLEMENTBINDINGSREACTIE
BIJ POLIOMYELITIS

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR
IN DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKSUNIVERSITEIT
TE LEIDEN OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS
DR. S. E. DE JONGH, HOOGLERAAR IN DE FACULTEIT
DER GENEESKUNDE, TEGEN DE BEDENKINGEN VAN
DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN
OP WOENSDAG 25 JUNI 1958 TE 15 UUR

DOOR

JULIENNE MARIE BORGHANS—DELVAUX

Geboren te Sas van Gent in 1928

PROMOTOR:

PROF. DR. J. D. VERLINDE

AAN MIJN MAN
AAN MIJN OUDERS

INHOUD

INLEIDING	IX
HOOFDSTUK I — De techniek van de complementbindingsreactie bij poliomyelitis	1
§ 1 Inleiding	1
§ 2 Bestanddelen der reactie	2
§ 3 De methode van serumtitratie	15
HOOFDSTUK II — Onderzoek naar complementbindende antilichamen in sera van geïnfecteerde proefdieren	29
HOOFDSTUK III — Onderzoek naar complementbindende antilichamen in sera van patiënten of contacten van patiënten	37
§ 1 Inleiding	37
§ 2 Gegevens van de patiënten en contacten van patiënten	38
§ 3 Resultaten der complementbindingsreacties met sera van patiënten en contacten van patiënten	57
§ 4 Resultaten van de complementbindingsreacties bij patiënten, van wie meer dan één serum werd onderzocht	67
HOOFDSTUK IV — Bespreking der resultaten in samenhang met gegevens van het virologisch onderzoek	73
§ 1 Verschil in resultaten der complementbindingsreacties bij gebruik van de antigenen A of B	73
§ 2 De vorming van complementbindende antilichamen in het verloop van de ziekte	80
HOOFDSTUK V — Specificiteit en typespecificiteit	85
§ 1 De specificiteit van de complementbindingsreactie op poliomyelitis	85
§ 2 De typespecificiteit van de complementbindingsreactie op poliomyelitis	88
HOOFDSTUK VI — Verdeling der resultaten naar de leeftijden der patiënten	95
Samenvatting en conclusies	100
Summary and conclusions	103
Literatuur	105

INLEIDING

In de laatste jaren is door een aantal onderzoekers de waarde van de complementbindingsreactie bij poliomyelitis nagegaan voor de laboratoriumdiagnostiek van de ziekte en de typering van het virus.

De resultaten van deze onderzoeken bleken vaak, in het bijzonder wat betreft de typespecificiteit der reactie, niet eenstemmig te zijn.

Na onderzoek van een aantal factoren, die de resultaten zouden kunnen beïnvloeden, hebben wij de complementbindingsreactie verricht met sera van een aantal patiënten en contactpersonen van de in Nederland in 1956 heersende poliomyelitis epidemie.

Gaarne betuigen wij onze dank aan de heren DR. B. HOFMAN en A. KRET die een aantal antigeenmonsters bereidden en aan de klinici, die aan onze uitnodiging, sera van virologisch onderzochte personen in te zenden, gehoor gaven.

Bij de bespreking van de resultaten wordt in het bijzonder aandacht geschonken aan:

1. het tijdstip, waarop de antilichamen kunnen worden aangetoond,
2. de typespecificiteit van de reactie,

factoren die van grote invloed zijn op de waarde van de reactie voor de diagnostiek en de epidemiologie van de infectie.

Ten einde een indruk omtrent de specificiteit te verkrijgen, hebben wij de resultaten van de reactie nagegaan bij een groep van patiënten die niet aan poliomyelitis bleken te lijden. Deze groep heeft niet de waarde van een controlegroep. Statistische vergelijking van de resultaten met die van een controlegroep, die zou moeten bestaan uit sera afgenomen tijdens een niet-epidemische periode, was niet mogelijk daar wij om verschillende redenen niet in staat waren de complementbindingsreactie met dergelijke sera te verrichten.

Een overzicht van de leeftijdsverdeling der serologisch onderzochte personen besluit dit geschrift.

I

DE TECHNIEK VAN DE COMPLEMENTBINDINGSREACTIE BIJ POLIOMYELITIS

§ 1. INLEIDING

Reeds uit het werk van verschillende onderzoekers (LE BOUVIER 1953, BLACK en MELNICK 1954) is gebleken dat met de complementbindingsreactie bij poliomyelitis slechts onder optimale omstandigheden, welke nauwkeurig moesten worden bepaald, bruikbare resultaten konden worden verkregen.

Ook wij hebben eerst getracht de factoren na te gaan, die bij de complementbindingsreactie op poliomyelitis een rol spelen en een werkwijze te ontwikkelen waarbij deze, over het algemeen zwakke reacties zo betrouwbaar mogelijk werden.

De preliminaire proeven, die ten doel hadden na te gaan welke de optimale omstandigheden waren voor de reactie, werden verricht met sera van apen, die met poliomyelitisvirus type 1 waren besmet.

Alvorens tot de bespreking hiervan over te gaan, moge een kort overzicht van de complementbindingsreactie in het algemeen volgen:

De reactie wordt toegepast voor het aantonen van antilichamen van het amboceptor-type. Deze antilichamen hebben, wil hun werking tot uiting komen, twee factoren nodig: antigeen en complement. Ze kunnen in aanwezigheid van antigeen complement binden. Complement is een thermolabiele substantie, aanwezig in het serum van zoogdieren.

Om de binding van complement na te gaan wordt als indicator een tweede systeem gebruikt — erythrocyten met hun specifiek antilichaam: het haemolysine (of haemolytische amboceptor) — dat haemolyse toont bij de aanwezigheid van complement. Dit tweede systeem wordt aangeduid met de naam haemolytisch systeem.

Indien een gegeven serum antilichamen bevat, zullen deze met antigeen complement kunnen binden; wanneer men nadien haemolytisch systeem toevoegt, zal er geen haemolyse kunnen optreden, indien al het complement gebonden was. Treedt er wel haemolyse op, dan was er nog vrij complement aanwezig en bevatte het serum geen antilichamen. Met andere woorden, indien haemolyse uitblijft is de reactie positief, bij volledige haemolyse negatief.

De verschillende graden van remming van de haemolyse worden uitgedrukt in een toenemend aantal (tot vier) plus-teken of in een getal dat het aantal plus-teken aangeeft: 0 (= —), 1, 2, 3 en 4.

Deze getallen komen overeen met respectievelijk (ongeveer) 0%, 25%, 50%, 75% en 100% onopgeloste erythocyten. In het algemeen wordt een 2-plus reactie nog als positief beschouwd.

Alle reagentia worden van te voren getitreerd om ze in de juiste hoeveelheden te gebruiken.

Aangezien het te onderzoeken serum complement kan bevatten, wordt het serum gedurende een bepaalde tijd verhit. Het benodigde complement wordt, in de vorm van vers caviaserum, in een bekende hoeveelheid bijgevoegd.

De complementbindende antilichamen in een serum kunnen quantitatief worden bepaald. De beste weergave van de mate van complementbinding van een positief serum wordt verkregen door een driedimensionale test met veranderende hoeveelheden serum, complement en antigeen (LE BOUVIER 1953).

Wanneer echter de optimale antigeendosis bekend is, kan ook een goed inzicht verkregen worden in de sterkte van de reactie door een tweedimensionale test, waarbij oplopende serumverduunningen tegen toenemende complementconcentraties worden getiteerd. De curve die de 50%-haemolyse punten verbindt, grenst een oppervlakte af, die de mate van complementbinding aangeeft. Als diagnostische reactie is deze tweedimensionale proef te bewerkelijk. Een vereenvoudigde vorm wordt echter wel door enkele onderzoekers gebruikt (BLACK en MELNICK 1954).

Een vrij eenvoudige kwantitatieve bepaling is een lineaire reactie, waarin de enige variabele factor de verduunning van het serum is.

Achtereenvolgens zullen, bij de beschrijving van het materiaal, de bijzonderheden worden besproken, die bij elk bestanddeel van de reactie naar voren kwamen; hierna zullen de verschillende toegepaste titratiemethodes worden beschreven en de resultaten van de gevolgde methodes worden vergeleken.

§ 2. BESTANDELEN DER REACTIE

Het Antigeen

INLEIDING

Daar het poliomyelitisvirus aanvankelijk slechts in apen voortgekweekt kon worden, werd het antigeen voor de complementbindingsreactie op poliomyelitis door de eerste onderzoekers bereid uit ruggemerg of hersenen van apen, die met poliomyelitisvirus besmet waren (NEUSTAEDTER c.s. 1917, KOLMER c.s. 1935, HARRISON 1939). Later lukte het aan ARMSTRONG (1939), de Lansing-stam van het type 2 aan katoenratten en muizen te adapteren. Tot de toepassing van de weefselkweekmethode hebben uitsluitend deze aan muizen geadapteerde stammen van het type 2 serologische toepassing gevonden.

Zo was het antigeen dat CASALS c.s. (1950, 1951a, 1952c) gebruikten

— de eersten die op onaanvechtbare wijze complementbindende antilichamen tegen poliomyelitisvirus wisten aan te tonen — bereid door aether-aceton extractie van hersenen van zuigelingenmuizen die te voren waren besmet met de MEF₁ stam van type 2. Aanvankelijk bleek de titer van dit antigeen niet hoog te zijn (2 tot 4) en moest het antigeen onverdund gebruikt worden. Na vele passages van de stam door zuigelingenmuizen steeg de titer tot 32.

Ook uit virusbevattende katoenrathersenen kon een bruikbaar antigeen bereid worden (LAHELLE 1951, POLLARD 1951).

POLLARD c.s. (1952) gebruikten behalve dit „katoenrat-antigeen”, type 1 (Brunhilde) en type 3 (Leon) antigeen, bereid uit ruggemerg van geïnfecteerde rhesusapen. Het katoenrat-antigeen was vaak te gebruiken in de verdunning 1 : 2 of 1 : 4, de aperuggemerg-antigenen konden nooit verdund worden.

SVEDMYR c.s. (1952) waren de eersten, die als antigeen de bovenstaande vloeistof van besmette celcultures gebruikten; deze cellen waren afkomstig van menselijke embryonale weefsels (huid, long, spieren, darmen en nieren) en aanvankelijk besmet met type 1 of 2, later ook met type 3.

Hoewel enkele onderzoekers nog met muizenhersenen-antigenen werkten, vonden deze weefselkweek-antigenen steeds grotere toepassing voor de complementbindingsreactie.

Ongetwijfeld bieden antigenen, bereid uit muizenhersenen voordelen. Vaak heeft zulk antigeen een hoge titer en het is vrijwel nooit anticomplementair. Een nadeel is echter dat men slechts over één type beschikt. CASALS achtte dit bezwaar gering, daar de door hem aangetoonde complementbindende antilichamen slechts specifiek voor het poliomyelitisvirus, daarentegen niet typespecifiek waren.

Een groot voordeel van de weefselkweek-antigenen is hun eenvoudige bereiding indien men beschikt over celcultures: men ent het virus in cultures van apeniercellen of cervixcarcinoomcellen, laat het groeien tot een hoge titer in het bovenstaande medium bereikt is en centrifugeert vervolgens het voedingsmedium op laag toerental af om celdébris te verwijderen. De bovenstaande vloeistof wordt gebruikt als antigeen.

De bezwaren die aan deze weefselkweek-antigenen kunnen kleven zijn:

1. de sterkte (met name de titer) van het antigeen is zeer gering,
2. vaak is het antigeen anticomplementair.

1. Het antigeen moet meestal onverdund gebruikt worden; er is slechts één enkele mededeling e.w. van BLACK (1955) over een weefselkweek-antigeen, dat tot in de verdunning 1 : 8 gebruikt kon worden.*)

Op verschillende wijzen heeft men getracht de sterkte van deze anti-

*) Na afsluiting van het onderzoek verscheen een mededeling van SCHMIDT en LENNETTE c.s. (1957), waarin zij berichten over antigenen, waarvan de titers, onder invloed van diverse gunstige factoren bij de groei van cellen en virus, 1 : 10 tot 1 : 12 bedroegen, enkele malen zelfs 1 : 16.

genen op te voeren o.a. door verdamping (BLACK 1955), ultrafiltratie (SVEDMYR c.s. 1952, BAUMEISTER c.s. 1956) en ultracentrifugeren (SCHMIDT c.s. 1955, BAUMEISTER c.s. 1956, BLACK c.s. 1954, 1955 *).

Tengevolge van deze behandelingen bleek inderdaad de titer van de antigenen te stijgen. Een groot nadeel was echter dat zij in vele gevallen ook sterker anticomplementair werden (LEPINE 1954, SCHMIDT en LENNETTE 1955).

Een eenvoudige oplossing van deze moeilijkheid meenden SCHMIDT en LENNETTE (1955) gevonden te hebben in het toevoegen van een grotere hoeveelheid antigeen per buis. In een aantal experimenten steeg de serumtiter inderdaad door de vergroting van de hoeveelheid antigeen, in andere proeven had deze verandering nauwelijks invloed. Bezwaarlijk bleek te zijn de versterking van het anticomplementaire effect door de grotere hoeveelheid antigeen.

2. De anticomplementaire werking van de weefselkweek-antigenen kan vaak op eenvoudige wijze tegengegaan worden, namelijk door verhitting gedurende 30 minuten op 56° C (BLACK en MELNICK 1954, SVEDMYR 1952) of op 60° C (HENNESSEN 1955b).

Volgens sommige onderzoekers zouden de antigenen door deze behandeling geen veranderingen in sterkte of specificiteit ondergaan, volgens anderen zouden bij gebruik van niet behandelde antigenen meer monotypische reacties (dus een grotere typespecificiteit) en hogere serumtiters waargenomen worden (LE BOUVIER 1955, SCHMIDT en LENNETTE 1956).

Een groot voordeel van de behandeling door verhitting is het verlies van infectiositeit. Ook door behandeling met formaline en door bestraling met ultraviolet licht heeft men getracht het antigeen avirulent te maken. Ook deze factoren zouden verzwakkend werken en wel in verschillende mate op de drie types (LE BOUVIER 1955, BLACK en MELNICK 1955). Door behandeling met formaline zouden de antigenen minder typespecifiek worden (BLACK en MELNICK 1955).

Verschillen tussen antigenen bereid uit verschillende stammen van één bepaald type zouden volgens LE BOUVIER (1955) en HENNESSEN (1955b) nauwelijks van betekenis zijn. Volgens MELNICK (1954) zouden echter recent geïsoleerde stammen in het algemeen zwakkere antigenen opleveren dan herhaaldelijk door celcultures gepasseerde laboratoriumstammen. Antigenen bereid van recent geïsoleerde stammen zouden vaker heterotypische reacties te zien geven.

Als antigenen in onze proeven werden de bovenstaande vloeistoffen van cultures van verschillende celsoorten gebruikt; de cellen waren 3 à 4

*) In een recente mededeling van ALBANO (1957) wordt voorts nog een methode beschreven, berustend op dialyse, voor het zuiveren en concentreren van virushoudend cultuurvocht. Ervaringen met op deze wijze verkregen antigenen worden niet vermeld.

dagen te voren geïnfecteerd met een stam behorende tot een der drie types. Deze vloeistof werd gedurende 10 minuten op 2500 of 3000 toeren per minuut gecentrifugeerd om cellen en celdébris te verwijderen.

De infectietiters der hierop onderzochte antigenen bleken vrijwel alle te liggen tussen $10^{5.5}$ en 10^7 TCD₅₀ (slechts twee maal werd een titer van $> 10^7$ TCD₅₀ gevonden).

De antigenen die wij beproefd hebben, waren afkomstig van de volgende celcultures:

- 1 apeniercellen: deze antigenen waren afkomstig uit eigen productie of waren commerciële antigenen
- 2 HeLa-cellen
- 3 muizecarcinoomcellen
- 4 muizesarcoomcellen.

Van deze antigenen werden verscheidene monsters onderzocht. Verontreiniging van celcultures door gisten en schimmels deed de antigeenproductie stagneren, aangezien deze verontreinigde cultures geen bruikbare antigenen opleverden. Evenmin was dit het geval met cultures waaraan nystatine was toegevoegd.

De stammen die voor de antigeenbereiding gebruikt werden waren van type 1: Mahoney
van type 2: MEF1
van type 3: Saukett (op HeLa-, muizecarcinoom- en muizesarcoomcellen) en Albers (op apeniercellen).

Voorts werden verscheidene uit patiëntenmateriaal geïsoleerde stammen van elk type onderzocht (de cultures van deze stammen waren van te voren bij elkaar gevoegd).

Als controle-antigeen diende de bovenstaande vloeistof van niet beënte cultures van dezelfde celsoort als van het gebruikte antigeen.

Van het in de handel verkregen antigeen was geen controle-antigeen aanwezig.

Een overzicht betreffende de gebruikte antigenen is gegeven in tabel 1.

De moeilijkheden, die zich met vele antigenen uit eigen productie voordeden waren:

1. een aantal antigenen was anticomplementair; deze eigenschap ging vaak verloren door verhitting gedurende 30 minuten op 56° C.
2. de antigenen hadden een zwak complementbindend vermogen, dat soms nog verzwakt werd door inactiveren.
3. de antigenen konden niet gestandaardiseerd worden; bij antigeentitratie bleek, dat zij in verdunning geen complement meer bonden met antisera.

ad 1. In het volgende voorbeeld zal de anticomplementaire werking van antigenen bereid uit de drie types van poliomyelitisvirus (de antigenen

TABEL 1

Overzicht van de gebruikte antigenen en hun anticomplementaire werking vóór en na inactiveren.

Celsoort en virusstam	Vóór inactiveren			Na inactiveren		
	Niet	Matig	Sterk	Pro- complem.	Niet anti- complem.	Onver- anderd
	anticomplementair					
I Apeniercellen		nog bruikbaar	onbruik- baar			
Mahoney	a d e g	b c	f h	d e	b c f h	
MEF1	a d	b c	f h	d	b f h	c
Albers	a d	b	f h	d	f h	
II HeLa-cellen						
Mahoney		b e f g	d h	h		d e f
MEF1		e g	h	h		e
Saukett		a	d h	h		a d
Mengsel van patiëntenstammen						
type 1		c				c
type 2		c				c
type 3		c				c
III Muizecarcinoom- cellen						
Mahoney			b d		b	d
MEF1			b c		b c	
Saukett		a	b d		b	d
IV Muizecarcinoom- cellen						
Mengsel v. patiëntenstammen						
type 1		a				
type 2		a				
type 3		a				
log TCD ₅₀	I	d	type 1 = 6,5	type 2 = 6	type 3 = 7	
	II	e f a	type 1 = 5,5 type 1 = 6 type 3 = 7,5	type 2 = 7,5		
	III	a	type 3 = 6			

De volgorde van de letters is voor elke celsoort chronologisch.

Antigenen van verschillende types op één celsoort gekweekt, die met dezelfde letter aangegeven worden, zijn dus terzelfdertijd vervaardigd.

Antigenen I f waren afkomstig van cultures, verontreinigd door schimmels.

Antigenen I h bevatten nystatine.

Beide antigenen waren ná inactiveren zo verzwakt dat zij onbruikbaar bleken te zijn.

Dit was ook het geval met de antigenen III b en III c.

De controle-antigenen (bovenstaande vloeistof van niet besmette celcultures) zijn niet in deze tabel opgenomen.

II h uit tabel 1) worden aangetoond. Het complement werd in deze proef getitreerd in aanwezigheid van deze antigenen; ter controle werd het complement in duplo getitreerd zonder antigeen, met verdunningsmedium (fysiologische zoutoplossing).

Na menging van 0,1 cm³ van oplopende complementverdunningen met 0,1 cm³ antigeen en 0,1 cm³ fysiologische zoutoplossing (of met 0,2 cm³ fysiologische zoutoplossing in de twee controlereeksen) werd

- a. onmiddellijk
- b. na 1 uur verblijf in een waterbad van 37° C van het mengsel complement — (antigeen) — fysiologische zoutoplossing.
- c. na 18 uur verblijf bij 4° C van het mengsel complement — (antigeen) — fysiologische zoutoplossing

aan ieder buisje 0,2 cm³ haemolytisch systeem toegevoegd.

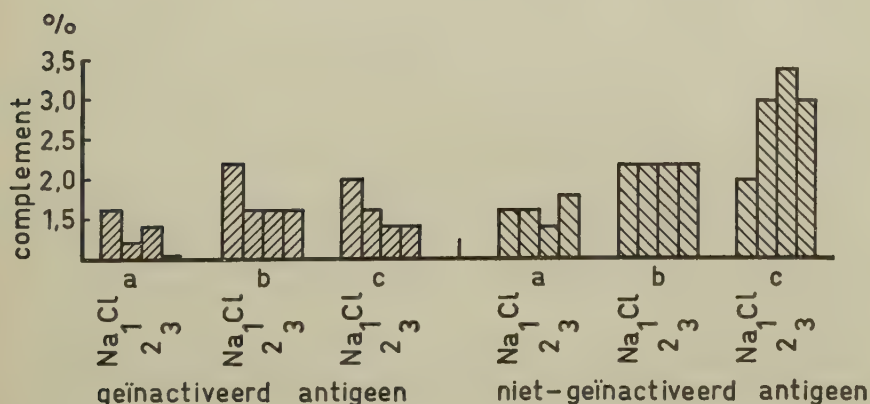
Na bijpipetteren van het haemolytisch systeem werden de buisjes gedurende een half uur in een waterbad van 37° C geplaatst. Alleen het haemolytisch systeem werd voor ieder onderdeel van deze proef afzonderlijk bereid uit dezelfde erythrocytensuspensie en amboceptor. De proef werd verricht met wel en niet geïnactiveerd antigeen:

De resultaten worden weergegeven in fig. 1. De letters hebben betrekking op de wijze van complementtitratie. De hoogten van de kolommen geven de concentraties van complement in procenten weer, bij welke nog juist geen volledige haemolyse gezien werd.

Uit deze figuur blijkt duidelijk dat in aanwezigheid van niet geïnactiveerd antigeen meer complement verloren ging (of gebonden werd) na een 18-urig verblijf in de koelcel (dus in omstandigheden van de serumtitratie) dan na 1-urig verblijf in het waterbad van 37° C.

Voorts blijkt dat deze antigenen na verhitting gedurende 30 minuten op 56° C procomplementair werden.

FIG. 1. ANTICOMPLEMENTAIRE WERKING VAN ANTIGENEN



Herhalingen van deze proef met dezelfde antigenen gaven overeenkomstige resultaten te zien — ook indien in plaats van physiologische zoutoplossing veronalbuffer als verdunningsvloeistof gebruikt werd of indien aan de physiologische zoutoplossing magnesiumsulfaat tot 0,1% werd toegevoegd.

Een overzicht van de werking van de gebruikte antigenen ten opzichte van het complement is gegeven in tabel 1.

Uit dit overzicht blijkt, dat door inactiveren niet alle anticomplementaire antigenen deze werking verloren hadden. Een aantal van de antigenen bij welke dit wel het geval was, was na deze behandeling duidelijk zwakker geworden; dikwijls was deze verzwakking zodanig dat de antigenen onbruikbaar waren geworden, zoals een aantal van de onder tabel 1 vermelde antigenen.

Vooruitlopend op het volgend punt, waarin wordt aangetoond dat de antigenen niet verdund konden worden, kon zodoende het verlies in sterkte door verhitte niet worden uitgedrukt in daling van de antigeentiter. In de betrokken gevallen was er bij gebruik van geïnactiveerd antigeen een afname in serumtiter. De in tabel 2 vermelde titraties van sera van apen geven hiervan een voorbeeld **).

TABEL 2

Invloed van de inactivering van het antigeen op de serumtiter.

Titratie van apesera

Serum- No.	Antigeen-types						No. Poliom. antigeen (zie tabel 1)
	Niet verhit			Verhit			
	1	2	3	1	2	3	
2	64*)	0	0	32	0	0	I d
7	64	64	—	64	8	—	I c
11	64	0	0	16	8	—	I b
25	64	0	0	16	0	0	I d
27	16	0	0	8	0	0	I d
30	16	0	—	8	0	—	I c
35	64	0	—	32	4	—	I c
36	32	0	0	8	0	0	I d

*) Voor de wijze van uitdrukken van de titer, zie bladzijde 16.

Van de 8 sera was de titer in 7 gevallen lager met verhit antigeen dan met niet behandeld antigeen. In deze gevallen waren de antigenen na verhitte nog voldoende bruikbaar.

De commerciële antigenen (die geïnactiveerd waren) bleken procomplementair te zijn.

**) Men zij erop bedacht dat deze tabel niet verschilt van tabel 10; deze tabel is tweemaal weergegeven terwille van het gemak van de lezer.

Een voordeel van de verhitting was de geringere infectiositeit van het geïnactiveerde virus: geen der drie apen, waarbij aldus verhit poliomyelitisvirus ter opwekking van antilichamen werd ingespoten (bladzijde 15) toonde enig ziekteverschijnsel.

ad 2. Alle antigenen werden getitreerd; geen enkel antigeen bleek in verdunning gebruikt te kunnen worden.

Enkele voorbeelden van antigeentitraties mogen dit verduidelijken (tabel 3).

TABEL 3

- a. Serum van patiënt No. 231, lijdende aan abacteriële meningitis (uit zijn ontlasting werd poliomyelitisvirus type 1 geïsoleerd). Met type 2, type 3 en bovenstaande vloeistof van niet beënte cultures was geen complement gebonden.

antigeen type 1 (Mahoney) gekweekt op apeniercellen	Serumverdunning					
	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	1 : 128
1 : 1	3	3	2	2	2	½ *)
1 : 2	½	0	0	0	0	0
1 : 4	0	0	0	0	0	0
1 : 8	0	0	0	0	0	0

- b. Serum van patiënt No. 90, lijdende aan paralytische vorm, (uit de ontlasting werd poliomyelitisvirus type 3 geïsoleerd). Met type 1, type 2 en niet beënt cultuurvocht geen binding van complement.

antigeen type 3 (Albers) gekweekt op apeniercellen	Serumverdunning					
	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	1 : 128
1 : 1	4	3	2	1	0	0
1 : 2	1	0	0	0	0	0
1 : 4	0	0	0	0	0	0
geïnactiveerd						
1 : 1	1	½	0	0	0	0
1 : 2	0	0	0	0	0	0

*) De hier genoemde cijfers geven de graad van haemolyse weer:

4 = geen haemolyse.

½ = een spoor niet gehaemolyseerde erythrocyten.

(Uit het laatste voorbeeld blijkt ook, dat het antigeen door inactiveren onbruikbaar geworden was.)

Daar het muizenhersenen-antigeen van CASALS wel te verdunnen was,

leek het belangwekkend te onderzoeken of onze antigenen nog werkzaam zouden zijn door verdunning met een suspensie van hersenen van niet geïnfecteerde muizen.

Als muizenhersensuspensie werd gebruikt een reeds aanwezig controle-antigeen voor de complementbindingsreactie, bereid volgens de methode aangegeven door DE BOER en COX (1947).

Het volgende protocol moge aantonen, dat deze antigenen, verdund met muizenhersensuspensie, nog werkzaam waren (tabel 4).

Met drie andere sera werden overeenkomstige resultaten bereikt. Toevoeging van een gelijk volumen hersensuspensie aan het antigeen bleek niet of nauwelijks invloed te hebben op de serumtiter.

TABEL 4

Invloed van verdunning met muizenhersensuspensie op de werkzaamheid van het antigeen.

Serum van patiënt No. 314; uit de ontlasting werd type 1 geïsoleerd						
(A)	antigeen type 1 (mengsel van patiëntenstammen) op HeLa-cellen	Serumverduunning				
		1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64
	a	4	3	2	½	0
	b	1	½	0	0	0
	c	4	4	2	½	0
	d	2	½	0	0	0
(B)	antigeen type 1 (Mahoney) op HeLa-cellen					
	a	4	3	2	½	0
	b	2	½	0	0	0
	c	3	2	1	½	0
	d	1	0	0	0	0
(C)	antigeen type 2 (MEF 1) op HeLa-cellen					
	a	0	0	0	0	0
	b	0	0	0	0	0
	c	0	0	0	0	0
	d	0	0	0	0	0

a = niet verdund

b = verdund 1 : 2 met veronalbuffer

c = verdund 1 : 2 met muizenhersensuspensie

d = c, 1 : 2 verdund met veronalbuffer

Het blijkt dus, dat in muizenhersenen bepaalde stoffen voorkomen die van invloed zijn op de sterkte van een antigeen voor de complementbindingsreactie. Merkwaardig is wel, gezien de resultaten met type 2, dat het niet deze factoren zijn die storend werken op de typespecificiteit, welke immers volgens CASALS (1951, 1952) met muizenhersenen-antigeen niet aangetoond kon worden.

Verder bleken de mengsels van poliomyelitisvirus-antigeen en hersensuspensie bij herhaling minder anticomplementair te zijn dan het in het mengsel aanwezige poliomyelitisvirus-antigeen.

De bij het in tabel 4 genoemde voorbeeld behorende complementtitraties (in de omstandigheden van de proef) hadden de volgende resultaten:

in aanwezigheid van	1 eenheid complement	complement- verdunding
(A) type 1	2,2%	1 : 45
id. verdund met hersensusp.	1,4%	1 : 71
(B) type 1	1,8%	1 : 55
id. verdund met hersensusp.	1,4%	
(C) type 2	1,6%	1 : 63
id. verdund met hersensusp.	1,4%	
veronalbuffer	1,4%	

De waarde van deze bevindingen voor de praktijk is moeilijk vast te stellen, te meer waar slechts enkele experimenten in deze richting uitgevoerd werden. Een door te sterke anticomplementaire werking onbruikbaar antigeen zou wellicht op deze wijze geschikt gemaakt kunnen worden.

Het zal geen zin hebben langs deze weg de beschikbare hoeveelheid antigeen te vergroten, gezien de tijdrovende bereidingswijze van de muizenhersensuspensie volgens DE BOER en COX.

Andere pogingen de sterkte van het antigeen te vergroten — zoals herhaaldelijk bevriezen en ontdooien van het voedingsmedium mét celdébris — deden de anticomplementaire werking van de antigenen sterk toenemen, welke eigenschap behouden bleef na inactiveren.

ad 3. De antigenen konden niet gestandaardiseerd worden door titratie aangezien zij na verdunding niet meer werkzaam waren. Onder optimale omstandigheden zouden dus de sera getitreerd worden ten opzichte van één eenheid antigeen. Titraties van één serum met verschillende antigenen gaven dan ook wel eens zeer uiteenlopende resultaten — althans bij gebruik van dezelfde hoeveelheid complement.

Het bleek evenwel een aantal malen mogelijk te zijn, de dosering van het complement zó te regelen dat de uitkomsten van titraties van één serum met verschillende monsters antigeen dezelfde waren.

Deze moeilijkheid wat betreft de standaardisatie zou overkomen kunnen worden door grote hoeveelheden antigeen in één keer te maken.

Daar in die periode de productie van antigeen stagneerde door veront-

reiniging met schimmels, werd overgegaan tot het aanschaffen van het commerciële antigeen, waardoor deze moeilijkheden waren omzeild.

Enkele van de antigeenhoeveelheden uit eigen productie, die een bruikbare sterkte hadden, niet anticomplementair waren en ook het meest met elkaar overeenstemden wat sterkte betreft, werden gebruikt voor het onderzoek van later te vermelden patiëntensera. De hoeveelheid van dit antigeen was echter onvoldoende. Gezamenlijk zal deze groep „antigeen A” genoemd worden bij de bespreking van de patiëntensera, in tegenstelling tot de in de handel verkregen antigenen der drie types, die „antigeen B” genoemd zullen worden.

De resultaten met deze beide soorten antigeen, verkregen met dezelfde sera, verschilden. Deze verschillen zullen ter sprake komen in hoofdstuk IV.

De specificiteit van het antigeen

Uit de gekozen voorbeelden (tabel 3) bleek reeds, dat de complementbindingsreactie op poliomyelitis typespecifiek is.

Overigens wordt groeps- en typespecificiteit besproken bij de resultaten van de titraties op ape- en mensensera.

Het Complement

In verband met het zwakke complementbindend vermogen van poliomyelitisvirus-antigeen is het steeds van groot belang gebleken, de complementdosis zo nauwkeurig mogelijk te bepalen en in de serumtitratie zo klein mogelijk te houden.

Het is nauwelijks mogelijk, een overzicht te geven van de complementdoseringen bij andere onderzoekingen, aangezien niet alleen de methode van complementtitratie van vroegere schrijvers verschillend is, maar ook de eenheid van complement op verschillende wijze is gedefinieerd. Voorts is door een aantal schrijvers de methode van complementtitratie niet aangegeven. Aangenomen mag worden, dat in vele van de laatste onderzoekingen de methode van KOLMER in grote trekken gevolgd werd (aangezien deze — voorzover ons bekend — de meest gebruikte is bij complementbindingsreacties op andere ziekten).

In het algemeen worden bij complementbindingsreacties op virusziekten 2 zogenaamde „exacte eenheden” van complement gebruikt. Deze eenheden worden aangegeven als de kleinste hoeveelheden (de kleinste concentraties, de hoogste verdunningen) van complement, die nog in staat zijn, een bepaalde hoeveelheid schapeërythrocyten in aanwezigheid van antigeen (en uiteraard amboceptor) geheel op te lossen.

De verschillende methodes van bepaling van deze eenheid, werden reeds aangegeven onder „Het Antigeen” (pag. 7).

Bij de serumtitraties met poliomyelitisvirus-antigeen, bereid uit muizen-

of katoenrathersenen, werden door POLLARD c.s. (1952) en CASALS c.s. (1951) 1,6 — 2 eenheden complement gebruikt.

LE BOUVIER (1953), eveneens werkend met antigeen van muizenherenen, gaf als eenheid die hoeveelheid complement aan, die in staat is 50% der schapeërythrocyten op te lossen (hierna te noemen de eenheid-50%.*). De complementtitratie had plaats onder omstandigheden van de serumtitratie. Bij de serumtitratie gebruikte hij 2,5 eenheden-50% — een hoeveelheid die overeenkomt met ongeveer 1,8 eenheden-100%. De complementbindingsreactie zou volgens hem echter het meest gevoelig zijn bij gebruik van 1,5 eenheden-100%.

BLACK en MELNICK (1954), die weefselkweek-antigenen gebruikten namen als eenheid van complement de „minimal unit” aan: die hoeveelheid complement, die nog juist geen zichtbare haemolyse veroorzaakt.

(Deze hoeveelheid komt overeen met $1/3$ — $1/4$ van de eenheid-100%.) De serumtitraties werden verricht in aanwezigheid van 1, 2, 3 en 4 van deze eenheden-0%.

SCHMIDT en LENNETTE tenslotte (1955), gebruikten 2 eenheden-100%, bepaald door alle voor de complementtitratie benodigde bestanddelen bij elkaar te voegen en de reeksen gedurende een half uur in een waterbad van 37°C te plaatsen.

In onze proeven werd caviaserum gebruikt, dat terstond na centrifugeren in hoeveelheden van 1 cm^3 werd gedistribueerd en bewaard werd, eerst bij -20°C later bij -60°C .

De complementtitraties werden verricht door $0,1\text{ cm}^3$ van oplopende complementverduunningen te mengen met $0,1\text{ cm}^3$ antigeen en $0,1\text{ cm}^3$ verdunningsvloeistof (of in de controlereeksen waaruit het antigeen werd weggelaten, $0,2\text{ cm}^3$ verdunningsvloeistof), deze mengsels gedurende 18 uur in de koelcel te plaatsen, daarna gedurende 20 minuten bij kamertemperatuur te laten staan en vervolgens hieraan $0,2\text{ cm}^3$ haemolytisch systeem toe te voegen. De titraties ten opzichte van de verdunningsvloeistof werden steeds in duplo uitgevoerd.

De verduunningen van het complement werden in percentages uitgedrukt en liepen van 1 — 3,4%: een rekenkundige reeks met factor 0,2.

Deze bleek voor wat betreft de zwak anticomplementaire antigenen nauwkeuriger te zijn en beter te voldoen dan de reeks 1 : 60, 1 : 55, 1 : 50 enz., die wel gebruikt werd voor de niet-anticomplementaire antigenen.

(Indien men uitgaat van de regel dat men, om van een verduunning $x\%$ te geraken tot een verduunning $y\%$, men $y\text{ cm}^3$ van $x\%$ moet nemen en deze hoeveelheid tot $x\text{ cm}^3$ moet aanvullen, is deze wijze van titreren zeer eenvoudig van uitvoering.)

*) Gezien het S-vormige verloop van de curve, welke de betrekking tussen percentage opgeloste erythrocyten en complement aangeeft, is de eenheid — 50% ongetwijfeld nauwkeuriger te bepalen dan de andere eenheden. Nauwkeurig is deze hoeveelheid evenwel slechts densimetrisch vast te stellen.

Bij de serumtitraties met antigenen uit eigen productie werden 1,25 — 1,5 eenheden *) complement gebruikt; bij de serumtitraties, met commercieel antigeen uitgevoerd, werden 2 eenheden gebruikt, nadat uit quadraattitraties van een aantal sera met stijgende hoeveelheden complement gebleken was, dat toevoeging van 2 eenheden inderdaad de juiste dosering was (in verband met de gewenste typespecificiteit) zoals uit het in tabel 5 gegeven voorbeeld blijkt.

TABEL 5

Quadraattitraties (op plastic plaat) met stijgende hoeveelheden complement van de sera van patiënt 127, lijdende aan de paralytische vorm van poliomyelitis (bij virologisch onderzoek van de ontlasting werd geen virus geïsoleerd).

complement	serum 1	antigeen										physiol. zout- oplossing
		type 1					type 2					
		serumverduunning										
		1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	1 : 4
1 E	4	4	4	3	1	4	4	3	3	½	½	
1,3E	4	4	3	2	½	4	3	2	1	½	0	
1,5E	4	4	2	1	0	2	2	½	0	0	0	
1,8E	2	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	
2,1E	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2,4E	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	serum 2											
1 E	4	4	4	3	1	4	4	4	3	½	0	
1,3E	4	4	3	2	0	3	3	3	½	0	0	
1,5E	4	4	3	2	0	2	2	1	0	0	0	
1,8E	4	3	3	1	0	1	½	0	0	0	0	
2,1E	3	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	
2,4E	3	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	

De in tabel 12 opgegeven titers van 4 en 32 zijn afkomstig van lineaire titraties in buizen met 2 E complement, uitgevoerd op een ander tijdstip.

Het Haemolytisch systeem was een mengsel van gelijke delen 2% schaapeerythrocytensuspensie en een zodanige oplossing van amboceptor dat per buis, dus per 1/2 cm³ reactiemengsel, 1,5 minimale haemolytische dosis gebruikt werd.

Deze amboceptor is eenmaal door ons getitreerd (methode GORTER en DE GRAAFF, 1956) en bleek een titer van 12000 te bezitten.

*) Een eenheid complement noemen wij dus 0,1 cm³ van de hoogste verduunning welke nog juist in staat is met de amboceptor alle schaapeerythrocyten op te lossen, in omstandigheden gelijk aan die van de hoofdproef.

De schapeërythrocyten werden eenmaal per week afgenomen. Zij werden, na defibrineren van het bloed, door schudden met glaspapels, drie maal met physiologische zoutoplossing gewassen en onverdund bij 4° C bewaard.

Bij elke complementbindingsreactie lieten wij de bestanddelen van het haemolytisch systeem gedurende 20 minuten bij kamertemperatuur op elkaar inwerken, alvorens dit mengsel in de buizen te pipetteren.

De verdunningsvloeistof

In het algemeen bleken de resultaten der reacties niet beïnvloed te worden door de keuze van de verdunningsvloeistof (physiologische zoutoplossing, physiologische zoutoplossing waaraan magnesiumsulfaat tot 0,1% was toegevoegd of veronalbuffer).

De titratie van een twintigtal patiëntensera ten opzichte van het commerciële antigeen werd in tweevoud uitgevoerd. In de ene reeks werd physiologische zoutoplossing, in de andere veronalbuffer gebruikt. Slechts bij één serum werd een verschil gezien. Dit serum toonde namelijk eigen remming met physiologische zoutoplossing en had verdund met veronalbuffer als titer 16 (serum No. 134).

Het serum

De sera werden na de scheiding van de bloedkoek bij — 20° C bewaard tot titratie. Vóór het in pipetteren werden de sera in de verdunning 1 : 4 gedurende 30 minuten bij 56° C geïnactiveerd.

Sera die anticomplementair waren, werden in een verdunning 1 : 4 met veronalbuffer 20 minuten op 60° C geïnactiveerd. Ook apesera, die dikwijls anticomplementair bleken te zijn, werden aldus verhit. De apesera die dan nog anticomplementair waren, werden gedurende 24 uur bewaard bij 4° C en opnieuw verhit, nu op 65° C.

Een aantal apesera bleef evenwel anticomplementair. Hiertoe behoorden ook de sera van apen, waarbij herhaaldelijk cultures van één der drie types intramuculair ingespoten werden (drie injecties met op 56° C geïnactiveerde cultures, daarna één met levend virus, alle vermengd met gelijke delen Bayol-Arlacel, met wekelijkse intervallen) met de bedoeling van deze apen positieve referentiesera te betrekken.

Het positieve referentieserum voor type 1 was eerst een mengsel van positieve apesera, later een mengsel van positieve sera van patiënten. Voorts werden met iedere proef één of meer patiëntensera opnieuw getitreerd. Het negatieve referentieserum bestond uit een mengsel van negatieve mensensera of van negatieve apesera.

§ 3. DE METHODE VAN SERUMTITRATIE

A. Titratie door middel van serumverdunding.

1. Alle sera werden getitreerd in buizen van $0,8 \times 10$ cm, volgens

een methode die overeenkomt met de semimicromethode van LEPINE (1954). Als volume-eenheid werd $0,1 \text{ cm}^3$ gebruikt.

Na ontdooien en inactiveren werden van het serum reeksen van tweevoudige verdunningen gemaakt, die liepen van $1/4$ tot $1/64$ voor patiëntensera en van $1/4$ tot $1/128$ voor apesera. Hiervan werd in de daarvoor bestemde buizen $0,1 \text{ cm}^3$ gepipetteerd, vervolgens werd hieraan $0,1 \text{ cm}^3$ van een der antigenen toegevoegd en daarna werd $0,1 \text{ cm}^3$ complementverdunding ingepipetteerd. Ieder serum werd uitgetitreerd ten opzichte van de drie antigeentypes en in $1 : 4$ verdunning samengebracht met de verdunningsvloeistof en met het controle-antigeen (de bovenstaande vloeistof van niet beënte celcultures), respectievelijk ter controle op eigen remming en complementbinding met andere factoren dan poliomyelitisvirus-antigenen.

Tegelijk met elke titratie van een groep sera werden complementtitraties verricht in aanwezigheid van de specifieke antigenen (type 1, 2 en 3), het controle-antigeen en de verdunningsvloeistof.

Na 18 uur verblijf bij 4° C werden de buizen gedurende een half uur bij kamertemperatuur geplaatst en werd aan iedere buis $0,2 \text{ cm}^3$ haemolytisch systeem toegevoegd. Vervolgens werden de buizen gedurende een half uur in een waterbad bij 37° C geplaatst en daarna afgelezen. De buizen waarin minder dan 50% van de erythrocyten waren opgelost, werden als positief beschouwd.

De graad van haemolyse werd afgelezen aan de hand van een standaardreeks, bestaande uit mengsels van een haemoglobine-oplossing en erythrocyten.

De titer van het serum werd uitgedrukt als de reciproke waarde van de hoogste beginverdunding, die 50% of meer remming van de haemolyse toonde. Uitslagen van sera, die geen positieve reactie in de laagste verdunning ($1/4$) toonden, werden als 0 genoteerd.

Met een titer van 64 (voor sera van patiënten, van 128 voor apesera) wordt bedoeld: 64 of hoger; het teken $>$ is, ter wille van de overzichtelijkheid, weggelaten.

2. Van een aantal sera werden microreacties verricht volgens hetzelfde principe.

Deze micromethode werd beproefd, omdat zij bij voldoende nauwkeurigheid een grote vermindering van antigeenverbruik zou betekenen (en daarom ook door alle reeds genoemde schrijvers, met uitzondering van CASALS, POLLARD en SCHMIDT c.s. werd gebruikt) en een aanzienlijke arbeidsbesparing wat betreft het spoelen van glaswerk.

In een 8 mm dikke plastic plaat (Perspex) van 31 bij 13,5 cm, waren op gelijke onderlinge afstand holtes met ronde bodem geboord. Deze holtes hadden een middellijn van 6 mm en bij benadering een inhoud van 150 mm^3 . Een opstaand randje van 1,2 cm rond de platen droeg er zorg voor dat de platen in een waterbad konden drijven.

De reactie werd op dezelfde wijze uitgevoerd als de complementbindingsreactie in buizen. Voor het in pipetteren van de verschillende factoren werden tuberculinespuiten gebruikt (één voor serumverduunningen, één voor elk antigeen en één voor de complementverduunning) voorzien van een 19-gauge naald en een rubber ballonnetje. Het aantal druppels dat deze spuiten per cm³ gedestilleerd water leverden, bedroeg 60. De volume-eenheid in deze reactie was 1 druppel.

Voorts werden na het bijdruppelen van het haemolytisch systeem de platen gedurende 1 uur in een waterbad van 37° C gelegd.*)

De graad van haemolyse werd afgelezen aan de hand van de grootte van het erythrocyten-bezinksel, vergeleken met het erythrocyten-bezinksel in een standaardreeks van mengsels van haemoglobine-oplossing en erythrocytensuspensie.

Ook een aantal quadraattitraties (met variërende serum- en complementverduunningen) werden op plastic platen uitgevoerd.

Bespreking van de micromethode. Vergelijking met de serumtitraties in buizen.

In totaal werden 83 sera onderzocht met beide methodes. De resultaten waren als volgt:

Negatief met beide methodes	42
Negatief met de buismethode (titer micromethode 8)	1 (No. 11)
Negatief met de micromethode (titer buismethode 4)	1 (No. 78)
Gelijke titers met beide methodes	21
Eén verduunning verschil	11
Twee verduunningen verschil	3
Meer dan twee verduunningen verschil	0
Met de plaatmethode niet af te lezen (doordat erythrocyten niet geheel opgelost waren), met buismethode negatief	4

Wanneer men als grens van het toelaatbare 1 verduunning verschil aanneemt, dan blijkt er overeenstemming te bestaan in 74 van de 83 titraties. Waarschijnlijk is het mogelijk door oefening dit gedeelte van overeenstemming te vergroten. Door omstandigheden waren wij toen evenwel gedwongen het onderzoek af te breken.

In het bijzonder bleek de micromethode geschikt voor quadraattitraties van sera tegen oplopende complementverduunningen, om aldus onwaarschijnlijk lijkende resultaten van de buismethode te controleren (zoals titerdalingen en heterotypische resultaten).

*) Men dient er zorg voor te dragen dat zich op de platen geen condenswater afzet wanneer zij na verblijf bij 4° C bij kamertemperatuur worden geplaatst. Dit kan voorkomen worden door de platen af te sluiten met passende deksels van dun (bijv. 0,2 mm) plastic en ze ongeopend op kamertemperatuur te laten komen vóór het toevoegen van het haemolytisch systeem.

B *Titratie met toenemende complementhoeveelheden.*

Een aantal sera werd getitreerd op complementverbruik. Deze methode is gebaseerd op het volgende:

Wanneer een serum getitreerd wordt met stijgende hoeveelheden complement ten opzichte van constante hoeveelheden antigeen en in de grafische voorstelling de punten die de hoogste verdunningen van serum en complement aangeven waarbij minder dan 50% der erythrocyten opgelost worden, verbonden worden, verkrijgt men in gunstige omstandigheden, een lineaire curve (zie FULTON en DUMBELL 1949). De curve grenst een oppervlakte af die de mate van complementbinding weergeeft. Volgens de lineaire serumverdunningsmethode worden in de ene richting de hoeveelheid antilichamen bepaald, die met een constante hoeveelheid complement nog juist een positieve reactie geven; in de richting loodrecht hierop kan men de hoeveelheid complement meten, die door de antilichamen in één bepaalde serumverdunning zodanig gebonden wordt dat er nog juist een positieve reactie optreedt.

Uitgaande van dit principe, (reeds eerder aangegeven door WADSWORTH c.s. 1938) ontwierp HENNESSEN (1955a) de volgende methode: hij bracht stijgende hoeveelheden complement samen met constante verdunningen van het serum en constante hoeveelheden antigeen. Na toevoeging van het haemolytisch systeem werd de „titer” van het serum uitgedrukt in het quotiënt van de hoeveelheid complement bij welke partiële haemolyse der erythrocyten optrad, en de hoeveelheid complement bij welke dit met een negatief serum het geval was.

Een voordeel van deze methode zou zijn, dat de complementtitratie achterwege gelaten kon worden, aangezien volgens HENNESSEN het quotiënt van een serum voor ieder complement (onafhankelijk van de kwaliteit) hetzelfde zou blijven.

Vooral door dit laatste voordeel leek het van belang te trachten de waarde van deze methode na te gaan. De aanvankelijk ondervonden moeilijkheden scholen namelijk voor een deel in de dosering van het complement bij de in meerdere of in mindere mate anticomplementaire antigenen uit eigen productie.

Deze „complementverbruik-methode” geeft waarschijnlijk op de meest eenvoudige wijze het complementbindend vermogen van een serum weer. Met de methode wordt immers nagegaan hoeveel complement door een bepaald quantum serum kan worden gebonden. Deze hoeveelheid complement, welke moet worden vergeleken met de hoeveelheid, verbruikt door een negatief serum, is afhankelijk van de hoeveelheid complementbindende antilichamen in dat quantum.

De gegevens, met deze methode verkregen, vormen in principe een duidelijke en eenvoudige maat voor de complementbindende antilichamen.

Het zou echter gewenst zijn een verband te kunnen leggen tussen de

uitkomsten van complementverbruik- en van serumverduunningsmethode, om in het algemeen resultaten te kunnen vergelijken.

Bij het onderzoeken van vele sera op complementbindende antilichamen tegen influenza zou het echter aan HENNESSEN (1955a) gebleken zijn, dat er geen regelmatig verband bestaat tussen de waarden, gevonden met de beide methodes. Dit zou samenhangen met het feit dat de curves, verkregen bij quadraattitraties, waarbij zowel variërende complement- als serumverduunningen worden gebezigd, niet alle dezelfde wet schijnen te volgen.

De curve van een sterk positief serum, zou een andere helling kunnen hebben dan de curve van een zwak positief serum, zodat hiervoor geen algemene formule kan worden opgegeven.

Een aantal sera werd door ons volgens de complementverbruik-methode getitreerd. Als volume-eenheid bij de titratie in buizen werd weer 0,1 cm³ genomen. De complementverduunningen werden uitgedrukt in procenten en uitgevoerd in rekenkundige reeksen met een toename van aanvankelijk 1%, later van 0,4 of 0,5%.

Van 55 sera hebben wij de resultaten van complementbindingsreacties op poliomyelitis (uitgevoerd in buizen) volgens beide methodes vergeleken.

De technische vragen en bezwaren welke naar voren kwamen bij de toepassing van de complementverbruik-methode waren de volgende:

1. met welke basishoeveelheden moest het complementverbruik van een positief serum vergeleken worden;
2. bij welke hoeveelheid verbruikt complement moest de reactie als positief beschouwd worden;
3. bij gebruik van een zwak antigeen zouden verschijnselen van anti-geentekort te zien kunnen zijn.

ad 1. Indien men over niet-anticomplementaire antigenen beschikt doet deze moeilijkheid zich niet voor. Het complementverbruik van een negatief serum zal dan niet afwijken van dat van de antigeencontrole; er is dus geen invloed van het serum als zodanig op het antigeen. Met deze weinig wisselvallige basis kan het complementverbruik van onbekende sera goed worden vergeleken.

Als voorbeeld moge de in tabel 6 vermelde titratie dienen:

Het antigeen was nauwelijks anticomplementair, wat bij vergelijking van de kolommen Cc en Ac naar voren komt. Het complementverbruik van de sera 81 en 83 was onderling even groot en gelijk aan dat van het antigeen alleen (Ac): er was namelijk een 2+-reactie met 2½% complement. De serumcontroles hadden ook ongeveer dit zelfde verbruik. In deze titratie was het dus duidelijk dat de verbruikte hoeveelheden complement van de positieve sera met 2½% vergeleken moesten worden. De sera

9 en 14 hadden nog een 2+-reactie bij 6% complement. Het quotiënt was in beide gevallen dus $6/2\frac{1}{2}$ of 2,4.

Is het antigeen anticomplementair, dan vermindert deze anticomplementaire werking, die vooral bij overnachtse titratie tot uiting komt, dikwijls onder invloed van normaal serum.

TABEL 6

Complementverbruik-methode toegepast bij 4 sera van apen
(serumnummers: 81, 83, 9 en 14)

% complement	7	0	0	0	0	0	0	$\frac{1}{2}$	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0
	5	0	0	0	0	0	0	3	0	3	0
	4	0	0	0	0	0	0	3	0	3	0
	$3\frac{1}{2}$	0	0	0	0	0	0	4	0	3	0
	3	0	1	1	0	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	4	1	4	$\frac{1}{2}$
	$2\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	2	2	1	2	2	4	2	4	$\frac{1}{2}$
	2	2	3	3	2	3	3	4	3	4	3
		Cc	Ac	81	Sc	83	Sc	9	Sc	14	Sc

Cc = complement-controlereeks Ac = antigeen-controlereeks

Sc = serum-controlereeks

De sera werden in verdunning 1 : 4 getitreerd met antigeen van het type 1 (HeLa-cel antigeen geïnactiveerd).

TABEL 7

Complementverbruik-methode toegepast bij 5 apesera (Nos. 92, 93, 63, 62 en 60), bij gebruik van anticomplementair antigeen. De sera werden in verdunning 1 : 5 getitreerd met antigeen van het type 1 (HeLa-cel antigeen, niet geïnactiveerd).

% complement	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
	6	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0
	5	0	$\frac{1}{2}$	0	0	0	0	2	0	4	0
	4	0	2	2	0	0	0	2	0	4	0
	$3\frac{1}{2}$	0	2	2	1	0	0	3	0	4	0
	3	0	3	3	3	0	0	3	$\frac{1}{2}$	4	0
	$2\frac{1}{2}$	1	3	3	3	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	3	1	4	1
	2	3	4	4	4	3	2	4	2	4	3
	$1\frac{1}{2}$	4	4	4	4	4	4	4	3	4	4
	1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		Cc	Ac	92	Sc	93	Sc	63	Sc	62	Sc
										60	Sc

Cc = complement-controlereeks Ac = antigeen-controlereeks

Sc = serum-controlereeks

Dat niet elk negatief serum dit in dezelfde mate doet *), moge blijken uit tabel 7.

Het antigeen was anticomplementair, hetgeen tot uiting komt indien men kolom Ac met kolom Cc vergelijkt. Serum 92 had een even sterk complementverbruik als het antigeen alleen en met serum 93 was de anticomplementaire werking duidelijk minder. De vraag is nu van welk van deze twee negatieve sera men het complementverbruik als basis moet nemen. De drie overige sera hadden een complementverbruik van 5%, 7% en 7%. Indien men dit vergelijkt met het verbruik van serum 92 verkrijgt men quotiënten van resp. 1,25 (5/4), 1,75 (7/4) en 1,75 (7/4). Bij vergelijking met serum 93 zouden de quotiënten echter resp. 2,5, 3,5 en 3,5 zijn.

De enige wijze om een quotiënt te kunnen opstellen, leek ons een arbitrair punt te nemen, verkregen uit het gemiddelde complementverbruik van verscheidene negatieve sera. Later werden een aantal negatieve sera gemengd en het verbruik van dit mengsel als basis genomen. In het bovenstaande voorbeeld zouden zodoende quotiënten van 1,7 (5/3) 2,3 (7/3) en 2,3 zijn verkregen.

ad 2. Volgens HENNESSEN (1955) zou, uitgaande van de KOLMER-techniek een serum positief zijn, als het in een verdunning 1/4 of lager, 2 eenheden complement bindt. Het quotiënt: complementverbruik door positief serum / complementverbruik door negatief serum zou bij een verdunning van de sera van 1/4 of 1/5 tenminste 2 moeten bedragen. Een quotiënt van 4 of 5 zou een sterk positieve reactie betekenen en ongeveer overeenkomen met een titer van 64.

Het voorgaande kan echter niet zonder meer beweerd worden: het quotiënt wordt namelijk beïnvloed door de hoeveelheid gebruikte erythrocyten van het haemolytisch systeem.

Indien in eenzelfde proef toenemende hoeveelheden haemolytisch systeem, dus grotere hoeveelheden erythrocyten, worden gebruikt, blijkt het absolute complementverbruik van een positief serum ongeveer hetzelfde te blijven. Het verbruik van het negatieve serum en het positieve serum neemt ongeveer met dezelfde hoeveelheid toe, het quotiënt wordt dientengevolge kleiner.

De volgende proeven met Wassermann-, vaccinia- en poliomyelitis-antigenen en bijbehorende positieve sera geven hiervan voorbeelden (fig. 2, 3, 4, 5 en 6). De Wassermann- en vaccinia-quadraattitraties, met variërende serum- en complementverdunningen werden in drievoud uitgevoerd (fig. 2 t/m 5). De volume-eenheid bedroeg steeds 0,1 cm³. Na overnachts

*) Dit bleek zeer duidelijk, toen wij op geleide van het bovenstaande voorbeeld een reeks van complementtitraties, zoals op pagina 7 beschreven, uitvoerden waarbij wij als verdunningsvloeistof een 1:4 verdunning van een negatief serum gebruikten. Dit serum bleek nauwelijks invloed op het anticomplementaire effect van de antigenen uit te oefenen.

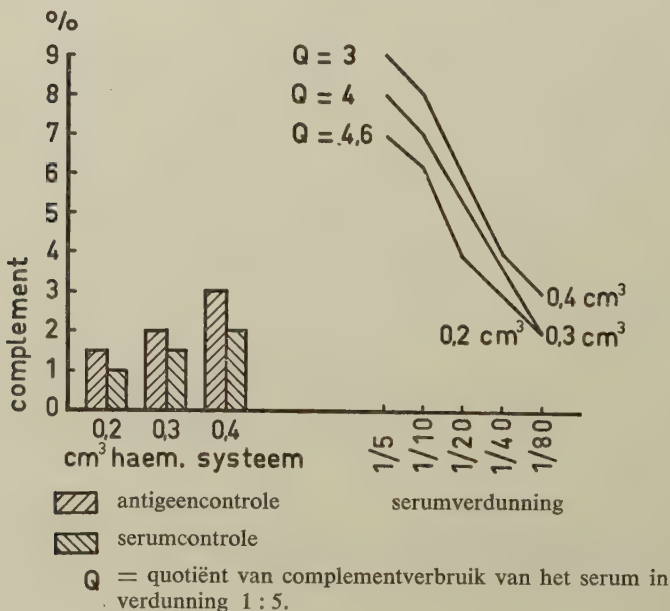
verblijf bij 4° C werd bij één titratie de standaard hoeveelheid haemolytisch systeem van 0,2 cm³, bij een tweede proef 0,3 cm³ en bij een derde 0,4 cm³ toegevoegd. De antigeen- en serumcontroles werden eveneens met de verschillende hoeveelheden uitgevoerd. De complementverbruikproeven (fig. 6) met poliomyelitis-antigeen type 1 werden met 0,2 en 0,4 cm³ haemolytisch systeem verricht.

De eerste proef (fig. 2) betrof een serum met een positieve reactie van Wassermann. Daar hier geen normaalserum werd meegetitreerd, werd als noemerwaarde voor het samen te stellen quotiënt, het complementverbruik van de antigeencontrole aangenomen. Dit bedroeg bij 0,2 cm³ haemolytisch systeem 1,5%, bij 0,3 cm³ 2% en bij 0,4 cm³ 3% complement. De verschillen in complementverbruik van het serum in de verdunning 1/5 met de diverse hoeveelheden haemolytisch systeem, weken niet veel af van de verschillen tussen de antigeencontroles. De curves van de 50% haemolyse bij de verschillende doseringen haemolytisch systeem liepen ongeveer parallel.

Hoewel het complementverbruik van de controle met 0,4 cm³ haemolytisch systeem 2 × zo groot was als met 0,2 cm³, was dit met het complementverbruik van het positieve serum in de verdunning 1/5 niet het geval; de hoeveelheden verbruikt complement bedroegen hier respectievelijk 9% en 7%. De quotiëntwaarden, zoals hier berekend, van het serum

QUADRAATTITRATIES VAN EENZELFDE SERUM MET VERSCHILLENDE HOEVEELHEDEN HAEMOLYTISCH SYSTEEM

Fig. 2. Wassermann-antigeen (serum 2 van fig. 7)

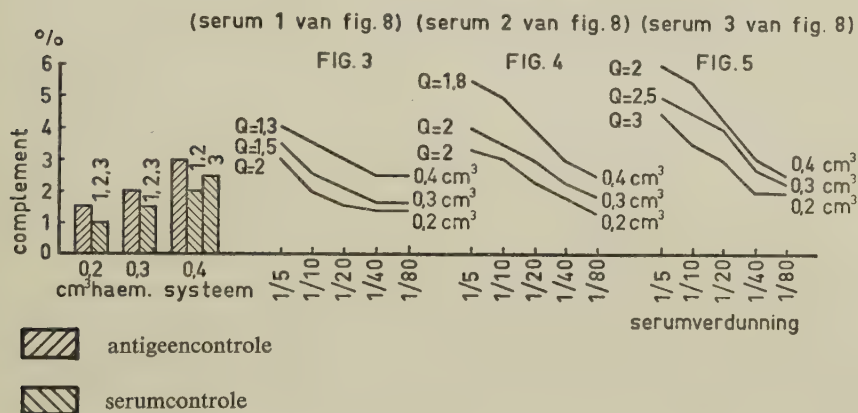


in de verdunning 1/5, bedroegen bij 0,2 cm³ haemolytisch systeem: 4,6, bij 0,3 cm: 4 en bij 0,4 cm³ : 3. Het absolute verschil met de controles bleef ongeveer hetzelfde: 5,5%, 6% en 6%.

In de proeven met vaccinia-antigeen (fig. 3, 4 en 5) zagen wij soortgelijke verschijnselen. De afname van de quotiëntwaarde bij een toenemende hoeveelheid haemolytisch systeem was het sterkst bij het serum van fig. 3 het geringst bij dat van fig. 4. Bij het serum van fig. 5 waren, in de verdunning 1/5, de absolute verschillen in complementverbruik steeds dezelfde; ook hier was weer een duidelijke afname in quotiëntwaarde bij gebruik van grotere hoeveelheden haemolytisch systeem.

QUADRAATTITRATIES VAN SERA BIJ VERSCHILLENDE HOEVEELHEDEN HAEMOLYTISCH SYSTEEM

Fig. 3, 4 en 5 Vaccinia-antigeen



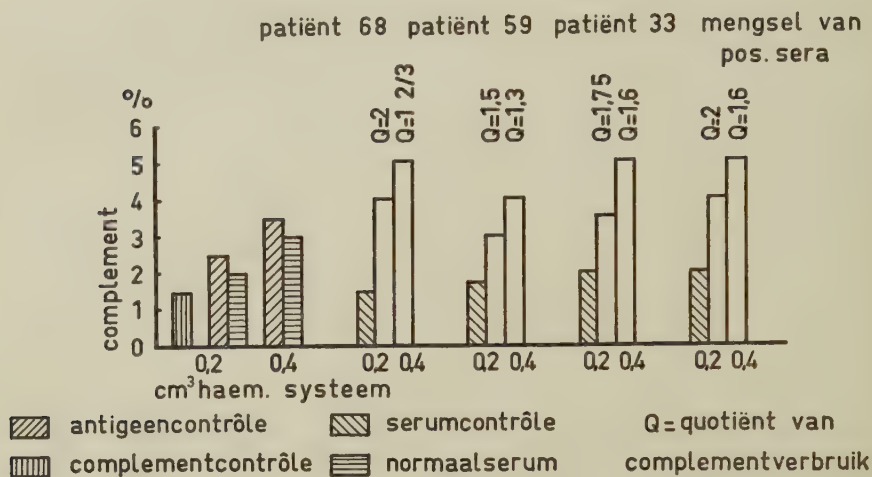
Q = quotiënt van complementverbruik van de sera in verdunning 1:5.

In fig. 6 zijn de titraties weergegeven van verschillende positieve sera alleen in de verdunning 1/5 met poliomyelitis-antigeen type 1. Het complementverbruik werd hier vergeleken met het verbruik van een mengsel van negatieve sera. Van ieder serum werd de serumcontrole (met 0,2 cm³ haemolytisch systeem) en het complementverbruik met de verschillende hoeveelheden haemolytisch systeem in kolommen aangegeven, met daarboven de bijbehorende quotiëntwaarde.

Ook hier was de quotiëntwaarde kleiner bij gebruik van meer haemolytisch systeem.

Aanvankelijk werd door HENNESSEN (1955) een duidelijk meer geconcentreerde suspensie van schapeërythrocyten aangegeven dan in latere publicaties, daar met een minder geconcentreerde suspensie betere resultaten werden verkregen. De aard van deze verbetering zal waarschijnlijk een groter quotiënt zijn geweest.

FIG. 6. POLIOMYELITIS-ANTIGEEEN
SERA IN DE VERDUNNING 1/5 GETITREERD TEGEN WISSELENDE
COMPLEMENTDOSES BIJ VERSCHILLENDE HOEVEELHEDEN
HAEMOLYTISCH SYSTEEM



Men kan dus niet zonder meer een waardering geven voor quotiënt-waarden, zonder hierbij duidelijk de overige proefomstandigheden vast te stellen, met name de samenstelling van het haemolytisch systeem.

In de eerste voorbeelden (blz. 20) bedroegen de quotiënten van de sera (met een verbruik dat duidelijk groter was dan dat der controles) 2,4, 1,7 en 2,3.

Bij vergelijking van de 55 sera, die hier volgens beide methodes werden getitreerd, bleek over het algemeen en bij benadering dat, wanneer de titer van het serum 8 of 16 bedroeg, het quotiënt dikwijls nauwelijks 1,5 was. Indien het quotiënt ongeveer een waarde van 2 had, was de serum-titer hoog. De hoogst genoteerde waarde bij deze reactie bedroeg 3.

De grens tussen een negatieve en een positieve reactie was moeilijk aan te geven. Sera met quotiënten tussen 1 en 1,5 gaven soms nog een positieve reactie te zien met de serumverduunningsmethode.

Met een waarde van 1,5 als grens, bleken er van de 55 onderzochte sera, 28 met één of beide methodes positief te zijn. Van deze 28 waren de resultaten van 21 sera met elkaar in overeenstemming. (Bij vier van deze werden heterotypische complementbindende antilichamen gevonden.)

In 11 gevallen waren de reacties positief met de serumverduunningsmethode voor meer dan 1 type. In 7 van deze gevallen was er met de complementverbruik-methode een positieve reactie alleen voor type 1 en in 4 gevallen waren er eveneens heterotypische reacties.

In tabel 8 worden de serumtiters en de complementverbruik-quotiënt-waarden vergeleken:

TABEL 8

Vergelijking van serumtiters en quotiëntwaarden van complementverbruik

		aantal sera								
serumtiter		<4	4-16	32-64	<4	4-16	32-64	<4	4-16	32-64
quo- tient	<1,5	1			14	3	4	18	4	2
	1,5 —1,75		3	12		1 1*	2			2
	1,75—2		1	4						
	2 en >2			7			1			
antigeen		type 1			type 2			type 3		

Behalve 1* waren alle positieve resultaten verkregen met de antigenen 2 en 3, heterotypisch.

De resultaten met type 1 toonden aan, dat de hoogste quotiënten (van omstreeks 2) steeds samengingen met een hoge titer, maar dat het omgekeerde niet steeds het geval was.

Voor deze titraties was een quotiëntwaarde van 2 als grens zeker te hoog.

ad 3. Door een aantal quadraattitraties met variërende serum- en complementverduunningen te verrichten, hebben we getracht een inzicht te verkrijgen in de oorzaak van het geringe complementverbruik.

De titraties werden uitgevoerd met verschillende poliomyelitis-antigenen. Ter vergelijking werden titraties verricht van positieve sera met Wassermann- en vaccinia-antigeen, welke zijn weergegeven in de figuren 7 en 8.

Vooraf figuur 7 illustreert dat er bij een toenemende hoeveelheid antilichamen, namelijk in de lagere serumverduunningen, een sterke stijging in het verbruik van het complement was; de curves hebben een steil verloop.

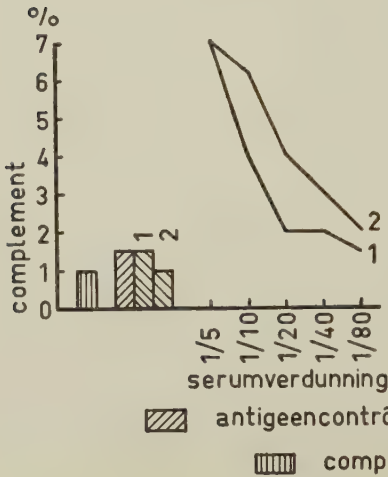
Ook figuur 8 toont een dergelijk beeld; zowel bij de sterkere als bij de zwakkere positieve sera was er een continue toename van de hoeveelheid gebonden complement.

Hoewel geen negatieve sera meegetitreerd werden, kan men aannemen dat het complementverbruik van een negatief serum niet lager zou zijn geweest dan dat van de antigeencontrole: 1,5% in beide gevallen.

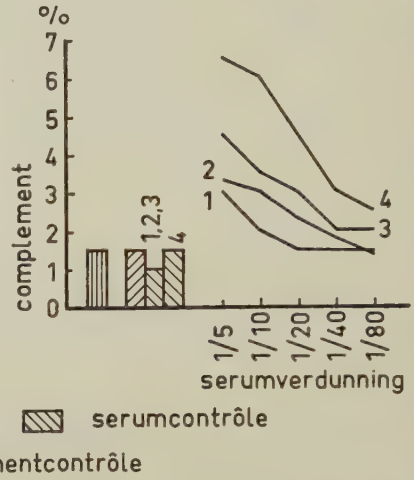
Het quotiënt van het complementverbruik van de sterk positieve sera in verduunning 1/5 zou in figuur 7: 4,7 en in figuur 8: 4,3 hebben bedragen.

De figuren 9 t/m 12 voorstellende titraties met de type 1 antigenen, laten een ander beeld zien: ondanks stijgende hoeveelheid antilichamen was er geen groter verbruik van complement.

QUADRAATTITRATIES VAN
TWEË POSITIEVE SERA
MET WASSERMANN-ANTIGEEEN
Fig. 7. Wassermann-antigeen



QUADRAATTITRATIES VAN
VIER POSITIEVE SERA
MET VACCINIA-ANTIGEEEN
Fig. 8. Vaccinia-antigeen



Niet een tekort aan antilichamen, maar aan antigeen werkte hier beperkend op de reacties, zodat in de lagere serumverduunningen de curves een meer horizontaal verloop hebben.

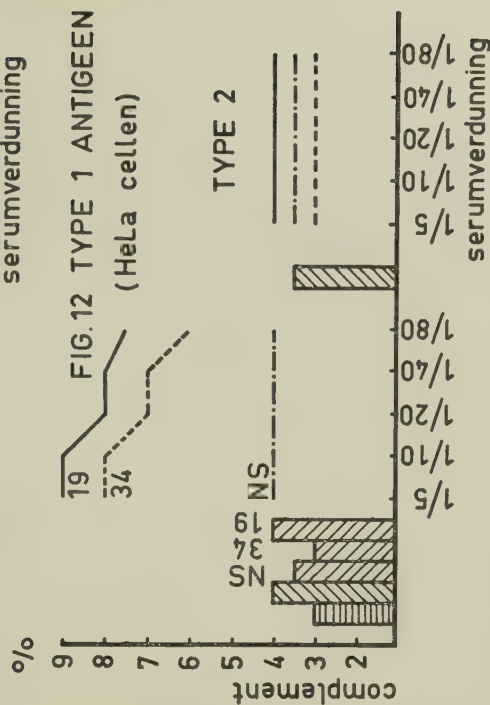
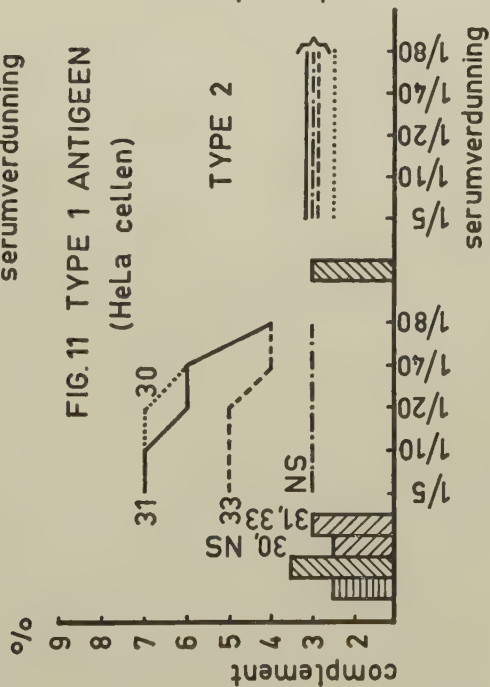
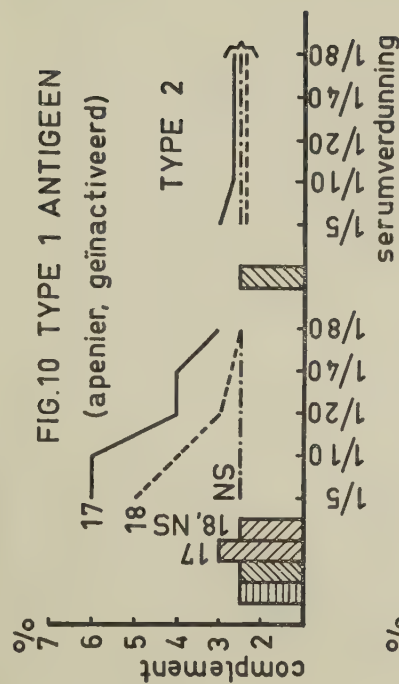
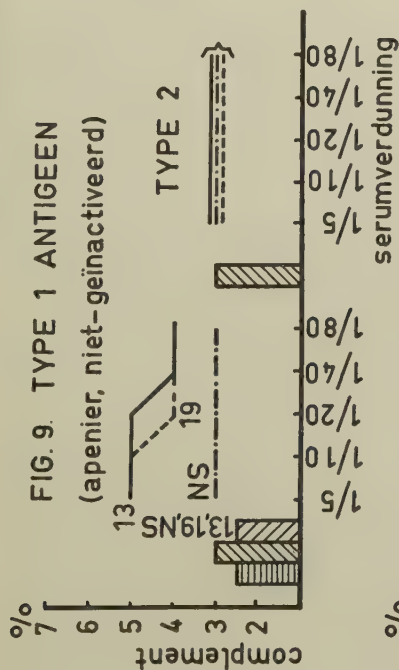
Met deze reacties werd steeds een mengsel van negatieve sera (Ns) meegetreurd. Het quotiënt van complementverbruik van de positieve sera in de verduunning 1/5 met de verschillende type 1 antigenen, steeg niet boven de 2,4 (fig. 10, serum 17).

Vooraf de curves van de sera 13 en 19 (fig. 9) en 30 en 31 (fig. 11) hebben duidelijk een plateau-vormig verloop bij de lagere serumverduunningen. Alleen toont serum 18 dit verschijnsel niet, waarschijnlijk was in dit geval het antigeen voldoende sterk, zodat met het zwakkere positieve serum geen verschijnsel van antigeentekort optrad.

De sera waren alle negatief met de type 2 antigenen. Figuur 9 laat zien dat het complementverbruik van de sera hetzelfde was als van het negatieve serum. Hetzelfde deed zich voor met de sera van figuur 10, behalve met serum 17: in de verduunning 1/5 was het verbruik iets groter en wel evenveel als van de serumcontrole 17. Ook in de figuren 11 en 12 tonen de onderzochte sera geen complementbinding met type 2 antigeen.

De obstakels, die we met deze methode ontmoetten hadden dezelfde oorzaken als die, welke wij met de serumverduunningsmethode hadden onderzocht en die we met deze complementverbruik-methode hadden gehoopt te omzeilen: de anticomplementaire werking en de geringe sterkte van

MET POLIOMYELITIS-ANTIGENEN



het antigeen. De quotiëntwaarden werden door deze factoren te sterk beïnvloed en konden zodoende niet beschouwd worden als een maat voor de complementbinding van een bepaald serum.

Daar deze methode vaker negatief uitviel dan de serumverdünningsmethode konden de positieve resultaten als zodanig wel als betrouwbaar worden beschouwd, de sterkte van de reactie kon echter niet nauwkeurig worden bepaald.

Hoewel de methode eenvoudiger van uitvoering was, bood ze in deze omstandigheden toch niet de beoogde voordelen en is daarom verlaten.

II

ONDERZOEK NAAR COMPLEMENTBINDENDE ANTILICHAMEN IN SERA VAN GEÏNFECTEERDE PROEFDIEREN

De sera waarmee voorbereidende proeven werden verricht waren grotendeels afkomstig van proefdieren, *Cynomolgus*-apen, die deel uitmaakten van een onderzoek elders beschreven (VERLINDE en HOFMAN, 1956).

Het aantal onderzochte serummonsters bedroeg 91.

Een 35-tal sera waren afkomstig van apen, die met poliomyelitisvirus type 1 (Mahoney-stam) waren besmet, nadat zij voor een deel van te voren waren gevaccineerd met de avirulente LS-c variant van de Mahoney-stam.

Eveneens werd serum onderzocht van 8 stervende apen met paralyse, na infectie per os met de virulente Mahoney-stam.

Een groep van 12 en een groep van 36 sera waren afkomstig van proefdieren enkele dagen, respectievelijk enkele weken na toediening van de bovengenoemde avirulente stam.

Voorts werd een mengsel van sera getitreerd, welke reeds eerder een positieve complementbindingsreactie uitsluitend met type 1 hadden gegeven.

Tabel 9 geeft een overzicht van de reacties van 43 van de onderzochte sera. In deze tabel is tevens vermeld de wijze waarop de betrokken proefdieren behandeld waren, evenals de antigenen waarmee de titraties volgens de serumverduunningsmethode werden uitgevoerd. De titraties met de complementverbruik-methode werden alle met de HeLa cel-antigenen II e (type 1 en 2) en II a (van tabel 1) verricht.

Een aantal van de eerste 35 sera zijn, behalve met de serumverduunningsmethode ook op complementverbruik onderzocht. De resultaten hiervan zijn met quotiëntwaarden aangegeven.

Indien een resultaat negatief was ($Q = 1$ of serumtiter < 4), werd dit echter, terwille van de overzichtelijkheid, met 0 aangegeven.

Ter controle werd elk serum in de laagste verdunning ingezet met de verdunningsvloeistof (serumcontrole: Sc) en met onbeënt cultuurvocht (controle-antigeen: CA) voor onderzoek respectievelijk op eigen remming (fixatie van complement door serum zonder meer) en op specifieke complementbinding met bestanddelen in de celcultures. Een aantal sera werd ook onderzocht met de bovenstaande vloeistof van celcultures waarin APC virus was gegroeid. De laatste 48 sera (enkele dagen respectievelijk enkele weken na toediening van de avirulente stam afgenomen) werden in verdunning 1/5 onderzocht met de complementverbruik-methode. De resultaten van dit onderzoek zijn niet in tabelvorm weergegeven.

TABEL 9

Complementbindende antilichamen in apesera.

Groep 1: Behandeling der proefdieren: vaccinatie per os, infectie per os.

No.	Type			Sc	CA	APC	Poliom. antigeen (zie tabel 1)	Type		
	1	2	3					1	2	3
1	128 64	128 64	128 64	0 0	0 0	— 4	Ia Ib	1,6	1,6	1,6
2	32 64	0 0	0 0	0 0	0 0	— —	Id (56°) Id			
3	64	64	64	0	0	8	Ib	1,5	1,2	1,2
4	anticomplementair									
5	anticomplementair									
6	anticomplementair									
7	64 64	8 64	— —	0 0	64 64	— —	Ic (56°) Ic	2,25 2	0 0	0 0
8	16	4	0	0	0	0	Ia	1,5 1,4	1,5 1,2	1,5 1,2
9	64	0	0	0	0	0	Ia	2,4	0	0
10	32 56 56	16 28 28	32 14 7	0 0 0	0 0 0	32 16 —	Ia Iic Iic	1,6	1,2	1,2
11	16 64 16	0 0 8	0 0 —	0 0 0	0 0 0	0 — —	Ia Ib Ib (56°)	1,8	0	0

Groep 2: Vaccinatie intracutaan, infectie per os.

12	32	0	0	0	0	0	Ia	1,5	0	0
13	32 32 64	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	Ia Ib Ic	1,6	0	0
14	32 32 32	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	Ib Id Ic	2	—	—
15	64 64	64 64	64 64	0 0	0 0	— 16	Ib Ia	1,6	0	0
16	64	64	16	0	0	16	Ia	1,6	0	0
17	32 16	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	Ia Ib	1,9 1,4	0 0	0 0
18	16	0	0	0	0	0	Ib	1,8	0	0
19	32	0	0	0	0	0	Ib			
20	64	16	0	0	0	0	Ia	2	0	0
21	32	32	64	0	0	0	Ia	1,5 2 1,5	1,5 — —	1,5 — —
22	64	64	64	0	0	8	Ib	1,6	—	—
23	anticomplementair									

Titers verkregen met de serumverduunningsmethode: links.

Quotiënten van complementverbruik: rechts.

Antigeen geïnactiveerd door verhitting op 56° C.

Sc: Serumcontrole

CA: Controle-antigeen

—: proef niet verricht

APC: APC virus-antigeen

Vervolg TABEL 9

Groep 3: Niet gevaccineerd, infectie per os.

No.	Type			Sc	Ca	APC	Poliom. antigeen (zie tabel 1)	Type		
	1	2	3					1	2	3
24	16	64	0	0	0	0	Ib	3	2,5	1,3
	64	64	—	0	0	—	Ic	1,5	1,2	0
25	64	0	0	0	0	—	Ib	1,6	0	0
	56	0	0	0	0	—	Iic			
	56	0	0	0	0	—	Iic			
	64	0	0	0	0	—	Id			
	16	0	0	0	0	—	Id (56°)			
26	64	0	0	0	0	—	Ib	1,8	0	0
27	64	64	64	0	0	8	Ib			
	16	0	0	0	0	—	Id			
	8	0	0	0	0	—	Id (56°)			
28	8	0	0	0	0	—	Ib			

Groep 4: Vaccinatie percutaan, infectie per os.

29	64	0	0	0	0	0	Ia	1,6	0	0
30	32	4	0	0	0	—	Ib	2	0	0
	16	0	—	0	0	—	Ic	1,75	0	0
	8	0	—	0	0	—	Ic (56°)			
31	32	0	—	0	0	—	Iie			
32	64	0	—	0	0	—	Iie			
33	32	0	0	0	0	—	Ib	1,5	0	0
	64	4	4	0	0	—	Iie type 3: IIa	1,4	0	0
	64	4	4	0	0	—	idem	1,75	0	0
34	8	0	0	0	0	0	Ia			
	8	0	0	0	0	0	Ib			
35	64	8	8	0	0	—	Ib			
	64	0	—	0	0	—	Ic			
	32	4	—	0	0	—	Ic (56°)			

Groep 5: Apen met paralyse

36	32	0	0	0	0	—	Id			
	8	0	0	0	0	—	Id (56°)			
37	0	0	0	0	0	—	Id			
	4	0	0	0	0	—	Id			
38	64	64	64	0	0	8	Id			
39	32	32	32	0	0	0	Id			
40	0	0	0	0	0	0	Id			
41	0	0	0	0	0	0	Id			
42	anticomplementair									
43	„ „									

Mengsel van positieve sera:

	32	0	0	0	0	—	Iie, type 3: IIa	2	0	0
	32	0	0	0	0	—	idem	1,75	0	0
	16	0	0	0	0	—	idem	1,8	0	0
	32	4	0	0	0	—	Iic			
	32	0	0	0	0	—	Iic			

De apesera werden niet onderzocht met de in de handel verkregen antigenen B.

Resultaten

Een 11-tal sera bleek anticomplementair te zijn, een eigenschap die na verhitting op 65° C niet verminderde.

Van de eerste 43, in tabel 9 opgenomen sera, werden er verscheidene meer dan eenmaal getitreerd. Zes van deze groep waren anticomplementair.

Met de serumverduunningsmethode (en ook met de complementverbruik-methode voor zover hiermee onderzocht) gaven 17 sera uitsluitend positieve reacties met type 1 te zien met titers variërend tussen 4 en 64. In een aantal van deze gevallen werden de proeven met soortgelijke resultaten herhaald.

Hierbij komen nog 3 sera die bij herhaling een monotypische reactie (type 1) te zien gaven en éénmaal een heterotypische reactie.

In 2 sera, van dieren die leden aan paralyse, werden geen complement-bindende antilichamen gevonden; in een derde serum van dezelfde proefdierengroep werd eenmaal geen duidelijk positief resultaat en eenmaal een titer van 4 gevonden.

De overige 15 sera toonden in meerdere of in mindere mate, positieve reacties voor meer dan één type, waaronder steeds type 1. Elf van deze 15 sera werden ook onderzocht tegen de drie types volgens de complementverbruik-methode; slechts in 6 gevallen werden eveneens heterotypische reacties gevonden, bij 2 van deze 6 sera lagen de quotiënten voor de types 2 en 3 echter tussen 1 en 1,5.

Bij een aantal van de overige 48 sera werden complementbindende antilichamen, uitsluitend voor type 1 gevonden. Deze sera waren afkomstig van apen enkele weken na toediening van de apathogene stam. Bij 7 monsters werd een quotiënt van meer dan 1,5 (tot 2,5) waargenomen en bij 4 sera lag dit tussen 1 en 1,5.

Geen van de 12 sera, verkregen enkele dagen na toediening van de LS-c variant bevatte complementbindende antilichamen voor een der drie types.

Bespreking

Van de 37 niet-anticomplementaire sera, verkregen van per os met virulent virus besmette dieren hadden er 20 monotypische reacties (type 1) (54%), 2 hadden geen complementbindende antilichamen (5%) en de overige (41%) toonden polytypische reacties.

Van de sera afgenomen enkele weken na toediening van de apathogene stam, hadden er 21% antilichamen uitsluitend tegen het homologe type. Van de sera afgenomen na enkele dagen was dit bij 0% het geval.

Wat de in tabel 9 opgenomen sera betreft, zijn de resultaten geenszins eensluidend, evenmin was dit het geval binnen een groep van sera, afkom-

stig van dieren die dezelfde behandeling hadden ondergaan: in elke groep kwamen zowel mono- als polytypische reacties voor en zowel sera met lage als met hoge titers. Sera zonder aantoonbare antilichamen kwamen echter alleen voor in de groep van stervende apen met paralyse.

De heterotypische reacties waren in vele proeven even sterk als die voor het homologe type, in enkele gevallen (21, 24) sterker en in een aantal gevallen duidelijk zwakker (11, 30, 33, 34).

Van de sera met heterotypische reacties, die nog volgens de complementverbruik-methode zijn getitreerd toonden een aantal (5 van de 11) geen waarneembare binding van complement met de heterologe types.

Voor het optreden van deze heterotypische reacties werd aan verschillende mogelijk oorzaken gedacht:

- 1°. De gevoelige uitvoering van de reactie met een lage complement-dosering, bij gebruik van deze zwakke antigenen, vormt een mogelijke foutenbron.
- 2°. De antigenen waarmee getitreerd werd waren niet typespecifiek.
- 3°. De reacties waren aspecifiek positief.
- 4°. Behalve antilichamen tegen het type waarmee de dieren geïnfecteerd waren, waren er ook heterotypische antilichamen ontstaan.

Een uitvoerige beschouwing betreffende heterotypische reacties volgt in hoofdstuk V.

ad 1°. Indien dit verschijnsel voornamelijk te wijten zou zijn aan een fout in de uitvoering, zou bij herhaling van de reacties met eenzelfde serum de aan- of afwezigheid van heterotypische reacties niet constant zijn.

In het algemeen kon bij sera die eenmaal een mono- of polytypische reactie hadden getoond, bij herhaling weer een dergelijke reactie worden waargenomen. Dit was bij 8 van de 11 sera met een monotypische reactie, waarvan de proeven verschillende malen werden uitgevoerd, het geval. Bij de drie overige sera (11, 27 en 30) was dit in twee van de drie proeven met deze sera verricht, het geval.

Van 7 sera met een positieve reactie voor meer dan één type werden de proeven herhaald. Bij 5 bleven de resultaten soortgelijk. Twee sera (33 en 35) toonden in twee proeven polytypische reacties met hoge titers voor type 1 en lage titers voor de (of één der) overige types, in een derde proef waren de reacties voor deze types negatief.

Bovendien kwamen, bij de later te noemen patiëntensera, die voor een groot deel ook met deze antigenen op dezelfde wijze waren getitreerd, zeer weinig polytypische reacties voor.

In de proeven, waarbij zwak positieve heterotypische reacties optraden, die niet of niet gemakkelijk bevestigd konden worden, komt deze foutenbron als mogelijke oorzaak zeker in aanmerking.

ad 2°. Antigenen kunnen door verschillende oorzaken minder typespecifiek worden of zijn. Verhitting van antigenen zou bijvoorbeeld een der-

gelijk gevolg gunnen hebben. Verschillende hier gebruikte antigeen-„batches” werden door verhitting geïnactiveerd.

Voorts zouden antigenen, bereid uit vers geïsoleerde stammen, di- of tritypische eigenschappen kunnen hebben. De stammen waarmee onze antigenen waren vervaardigd, waren voornamelijk standaardstammen. Enkele antigenen waren echter bereid met virusstammen geïsoleerd uit patiënten-materiaal.

Wat de invloed van het inactiveren door verhitting betreft, tonen de voorbeelden van tabel 10 aan, dat deze behandeling geen heterotypische reacties tot constant gevolg heeft gehad, of dat deze reacties met onbehandeld antigeen vrijwel steeds uitbleven.

TABEL 10

Invloed van de inactivering van het antigeen op de typespecificiteit
Titratie van apesera

Serum- No.	Antigeen-types						No. Poliom. antigeen (zie tabel 1)
	Niet verhit			Verhit			
	1	2	3	1	2	3	
2	64	0	0	32	0	0	I d
7	64	64	—	64	8	—	I c
11	64	0	0	16	8	—	I b
25	64	0	0	16	0	0	I d
27	16	0	0	8	0	0	I d
30	16	0	—	8	0	—	I c
35	64	0	—	32	4	—	I c
36	32	0	0	8	0	0	I d

Twee sera toonden een heterotypische reactie na het inactiveren van het antigeen (11 en 35), een ander serum (7) toonde reeds een dergelijke reactie met niet verhit antigeen. De sera die heterotypische reacties toonden, werden bovendien voor het merendeel met niet geïnactiveerde antigenen getitreerd.

Wat de verschillen in typespecificiteit betreft tussen standaardstammen en patiëntenvirusstammen, hiervan kunnen we slechts enkele voorbeelden geven (tabel 11).

Slechts het mengsel van positieve sera is met beide soorten van virusstammen op dezelfde celsoort getitreerd, waarbij zich eenmaal een zwak positieve reactie met patiëntenvirus-antigeen voordeed (met type 2).

In het algemeen zagen wij zowel met antigenen verkregen met standaardstammen als met recent geïsoleerde stammen mono- als polytypische reacties, zodat we hier aan deze mogelijkheid waarschijnlijk niet te veel waarde moeten hechten.

TABEL 11

Typespecificiteit van standaardstammen en patiëntenstammen

serum No.	pat. stam IIc			standaardstam			No. poliom. antigeen (zie tabel 1)
	Type						
	1	2	3	1	2	3	
mengsel van pos. sera	32	4	0	32	0	0	IIc, IIa (type 3)
	32	0	0	32	0	0	” ”
				16	0	0	” ”
10	56	28	14	32	16	32	I a
	56	28	7				
25	56	0	0	64	0	0	I b
	56	0	0	64	0	0	I d

ad 3°. Men kan zich voorstellen dat er door aspecifieke bestanddelen in het antigeen vals positieve reacties kunnen optreden met alle types. Wij hebben getracht dit te achterhalen door de sera in een lage verdunning te testen met de bovenstaande vloeistof van niet besmette cultures van dezelfde celsoort, welke vloeistof als controle-antigeen diende. Daar aan een aantal dieren virushoudend cultuurvocht parenteraal was toegediend bij vaccinatie, was de mogelijkheid dat complementbinding met aspecifieke stoffen zou optreden niet uitgesloten.

Slechts één serum (7) toonde dit verschijnsel bij herhaling. Bij titratie bleek deze aspecifieke titer ook hoog te zijn. De serumcontrole toonde in dit geval aan, dat er geen eigen remming was van het serum zonder meer. Merkwaardig was het, dat juist dit serum afkomstig was van een aap uit de groep waar het vaccin niet parenteraal was toegediend.

Er werd voorts nog gedacht aan de mogelijkheid of aspecifieke stoffen, niet die welke voorkomen in niet besmet cultuurvocht, maar in vloeistof van cultures waarin virusgroei met celdegeneratie had plaatsgehad, valse positieve reacties zouden kunnen veroorzaken. Hiertoe werd een aantal sera tevens onderzocht met antigeen bereid uit weefselcultures (apenier-cellen) die geïnfecteerd waren met APC virus. Van de 25 aldus onderzochte sera hadden er 13 polytypische reacties tegen poliomyelitis-antigeen; 8 van deze 13 sera toonden een zekere titer met het APC-antigeen. De sera met uitsluitend een monotypische complementbindings-reactie (type 1) tegen poliomyelitis-antigeen hadden geen positieve APC-reactie. Vooral bij serum 10 werd een vrij hoge titer waargenomen. De 8 sera met een positieve APC-complementbindingsreactie waren zowel afkomstig van dieren die parenteraal waren gevaccineerd als van proefdieren die alleen per os waren behandeld.

Welke de betekenis is van deze positieve APC-reacties is niet met zekerheid te zeggen. De mogelijkheid bestaat dat het specifieke reacties

waren tengevolge van een toevallige besmetting. Dit zou waarschijnlijker worden indien ook positieve reactie gevonden waren bij dieren die met de poliomyelitis-antigenen monotypische of negatieve reacties hadden getoond.

Het is dus niet uitgesloten dat er in een aantal gevallen specifieke positieve reacties in het spel waren.

ad 4°. Tenslotte blijft als mogelijkheid over, dat de heterotypische reacties het gevolg waren van besmetting met poliomyelitis type 1.

Volgens verscheidene onderzoekers worden wel heterotypische reacties gezien in mensensera, maar niet bij apen waarbij standaardstammen intramusculair waren toegediend. In het serum van een aap waarbij type 2 intramusculair was ingespoten, vonden wij slechts complementbindende antilichamen tegen type 2 (titer tegen onverhit type 2 antigeen: 16, tegen verhit type 2 antigeen: 8).

Bij de titraties van de apesera vonden wij juist meer heterotypische reacties dan bij de titraties van mensensera. Alle apen waren per os met een virulente standaardstam besmet en aan een gedeelte der dieren was de LS-c variant oraal toegediend. In deze gevallen kwam de wijze van besmetting overeen met die van de natuurlijke besmetting bij de mens. Het is echter moeilijk aan te nemen dat de wijze van besmetting een verklaring vormt voor het ontstaan van heterotypische complementbindende antilichamen, juist omdat deze in de onderzochte mensensera zo zelden gevonden werden.

Evenmin is het waarschijnlijk dat de als vaccin bedoelde LS-c stam groepsantigenen bevatte, aangezien deze stam een variant is van de virulente Mahoney-standaardstam, de positieve reacties in de sera van apen, enkele weken na toediening van dit vaccin afgenomen, homotypisch waren en heterotypische reacties ook gevonden werden in sera van niet gevacineerde dieren.

In het algemeen werden bij de titratie van deze apesera titers liggende tussen 16 en 64, bij uitzondering 8 of 128 gevonden tegen type 1. In elke groep van dieren, die dezelfde behandeling hadden ondergaan, kwamen lage en hoge titers voor. Een uitzondering vormde echter de groep van apen met paralyse: in 3 van de 6 niet-anticomplementaire sera werd een negatieve of zwak positieve reactie gevonden.

III

ONDERZOEK NAAR COMPLEMENTBINDENDE ANTILICHAMEN IN SERA VAN PATIËNTEN OF CONTACTEN VAN PATIËNTEN

§ 1. INLEIDING.

Gedurende de in 1956 heersende poliomyelitis epidemie werd een groot aantal faecesmonsters door middel van enting op gekweekte cellen of inspuiting bij zuigelingmuizen op de aanwezigheid van poliomyelitisvirus of één van de andere enterale virussen onderzocht.

De meeste monsters waren afkomstig van patiënten, die er van werden verdacht aan de ziekte van HEINE-MEDIN te lijden. Van een aantal van deze patiënten werden één of meer sera onderzocht op de aanwezigheid van complementbindende antilichamen tegen poliomyelitisvirus.

Getracht werd, door de resultaten van deze serologische reactie te bestuderen met betrekking tot de resultaten van het virologische onderzoek en in samenhang met de klinische verschijnselen van deze patiënten, de diagnostische waarde van de complementbindingsreactie op poliomyelitis na te gaan.

Behalve sera van patiënten, werden sera afkomstig van klinisch gezonde personen onderzocht, die in aanraking waren geweest met verlamde patiënten, evenals van gezinsleden van deze personen.

De complementbindingsreactie op poliomyelitis is door verschillende onderzoekers in hoofdzaak verricht met sera van patiënten met paralyse. Daar wij in dit onderzoek behalve over sera afkomstig van paralytische patiënten, ook beschikten over sera van patiënten lijdende aan andere vormen van poliomyelitis en van contactpersonen, zullen de resultaten bij deze groepen afzonderlijk worden nagegaan. De resultaten zullen worden vergeleken met de uitkomsten van het virologische onderzoek.

Van de patiënten werd zoveel mogelijk getracht twee sera te verkrijgen, waarvan één serummonster was afgenomen in de eerste ziektedagen en een tweede veertien dagen later. Het bleek onmogelijk dit schema nauwkeurig te handhaven; zo stamde ongeveer de helft van de eerste serummonsters uit de eerste ziekteweek en kon van een aantal patiënten slechts één serum worden onderzocht.

In het volgende zullen de ons ter beschikking staande gegevens van patiënten en contactpersonen en vervolgens de resultaten van de complementbindingsreacties besproken worden.

§ 2. GEGEVENS VAN DE PATIENTEN EN CONTACTEN VAN PATIENTEN.

1. Aantal.

Het aantal patiënten van wie serum werd ontvangen bedroeg 359. Van 94 patiënten werd een serumpaars (of meer dan twee sera) onderzocht. Voorts werd van 126 gezonde contactpersonen een serummonster onderzocht. Van deze waren er 19 in aanraking geweest met patiënten bij wie de diagnose poliomyelitis twijfelachtig was of later verworpen moest worden en in geen geval virologisch (of serologisch) bevestigd kon worden.

2. Indeling naar klinische verschijnselen.

De klinische verschijnselen van de 359 onderzochte patiënten waren wisselend. Aangezien de ons verstrekte gegevens dikwijls zeer summier waren, konden de patiënten slechts grof-schematisch ingedeeld worden naar het op de voorgrond staande ziektebeeld. Dikwijls werd dit laatste duidelijk vermeld. Van andere patiënten is aan de hand van beschreven symptomen later een waarschijnlijkheidsdiagnose opgesteld, op grond waarvan zij in één van de onderstaande groepen gerangschikt zijn. *)

Het ligt niet in de lijn van deze bespreking de talrijke variaties van de klinische vormen te vermelden, die tijdens deze epidemie gevonden werden; de symptomatologie van de ziekte van HEINE-MEDIN is zo veelzijdig, dat deze schematische indeling in slechts vier groepen met zich meebrengt, dat uiteenlopende klinische vormen met één gemeenschappelijk hoofdkenmerk tot een bepaalde groep zijn gerekend.

Voor zover ons echter bijzonderheden bekend zijn, die aanleiding gaven tot twijfel over de juistheid van de klassering van een patiënt, zullen deze vermeld worden.

Aldus zijn de patiënten in een van de volgende groepen ondergebracht:

- a. patiënten met paralyse of parese,
- b. patiënten met verschijnselen van meningitis,
- c. patiënten met verschijnselen van encephalitis,
- d. patiënten, waarschijnlijk lijdende aan de abortieve vorm van de ziekte van HEINE-MEDIN,
- e. patiënten, lijdende aan een andere ziekte.

ad a. Deze groep omvat 160 patiënten, gerangschikt in tabel 12a, met slappe paralyse of parese van spieren van ledematen of romp, of aantasting van kernen van hersenzenuwen.

In deze groep zijn 17 patiënten met paralyse van de N facialis en 1 patiënt met paralyse van de N oculomotorius opgenomen. Hoewel dikwijls gecombineerd met andere verschijnselen die in de richting van de diagnose wijzen, kunnen deze laatste vormen zonder twijfel ook als monosymptomatische vorm van de ziekte van HEINE-MEDIN voorkomen.

*) Dit is gebeurd met de hulp van Dr D. MOFFIE, neuroloog-psychiater te Willemstad (N.A.), wie wij erkentelijk zijn voor zijn adviezen.

Zo schrijft RIMBAUD: „mais on voit aussi des formes bulboprotubérantielles pures; les noyaux des nerfs craniens sont lésés de façon élective: ophthalmoplégies, douleurs trigémellaires, troubles vestibulaires, hypoacousie, paralysie faciale surtout. Certains cas de paralysie faciale isolée du type périphérique ne sont en réalité que des maladies de HEINE-MEDIN monosymptomatiques”.

Dit is in overeenstemming met de mening van BODIAN, volgens wie paralysie van de hersenzenuwen, in het bijzonder van de N facialis, dikwijls veroorzaakt wordt door het poliomyelitisvirus.

Bij 6 patiënten werd alleen facialisparalyse of -parese vermeld (143, 146, 148, 154, 155 en 156 *); in één geval werd meegedeeld dat er geen andere afwijkingen (ook niet in het lumbaalvocht) werden gevonden (149).

De overige 11 patiënten bleken ook andere symptomen te hebben waardoor de waarschijnlijkheid, dat infectie met poliomyelitisvirus de oorzaak van de paralyse was, groter werd: prodromale verschijnselen met gastro-enteritis en/of tonsillitis (144, 152) en/of meningeale verschijnselen (145, 147, 150, 151, 153, 157, 160). Twee patiënten hadden behalve koorts ook slikklachten (158, 159). Eén van deze toonde tevens verschijnselen van meningitis.

Van de overige 142 patiënten werd van 11 alleen „bulbair paralyse” vermeld.

Van een aantal patiënten van deze groep werd als enig klinisch gegeven vermeld: „paralytische vorm van poliomyelitis”. Van vele andere gevallen werden nog nadere bijzonderheden meegedeeld zoals algemene verschijnselen, verschijnselen van gastro-enteritis, afwijkingen in het lumbaalvocht of andere symptomen van meningitis. Welke deze andere verschijnselen ook waren, elke patiënt met paralyse (behoudens de uitzonderingen vermeld onder c en e) werden in deze groep opgenomen.

ad b. Tot deze groep, bestaande uit 134 patiënten, gerangschikt in tabel 12b, werden allen gerekend bij wie meningeale symptomen aanwezig waren zonder paralyse of verschijnselen van encephalitis, of van wie zonder meer als diagnose door de klinicus werd vermeld „abacteriële”, „aseptische”, „sereuze”, of „lymphocytaire” meningitis. Het is algemeen bekend dat een infectie met het poliomyelitisvirus kan verlopen onder het beeld van een aseptische lymphocytaire meningitis, zodat het waarschijnlijk is dat een aantal van de in deze groep gerangschikte patiënten aan de ziekte van HEINE-MEDIN leden.

GODENNE en RIORDAN (1955) namen waar, dat wanneer de paralytische gevallen van poliomyelitis in aantal toenamen gedurende een bepaalde periode, ook het aantal der niet-paralytische gevallen steeg, onder andere het aantal gevallen van aseptische meningitis. (Dat infectie met poliomyelitisvirus oorzaak was, bleek uit virologisch of serologisch onderzoek).

*) De nummers geven de patiënten aan en verwijzen naar de nummers in tabel 12.

Van enkele lijdens aan meningitis was bekend dat er nauw contact was geweest met paralytische patiënten (270, 198). Zo werd een patiëntje (270) met meningitis ongeveer gelijktijdig ziek met een zusje (109), dat verlamd werd.

Van enkele groepen van patiënten met meningitis werd vermeld dat zij onderling in nauw contact waren geweest en allen aan een vrijwel identiek ziektebeeld leden; dit was het geval met een groep van zes (168, 173, 215, 217, 238, 247) en een ander groepje van drie patiënten (246, 252, 265). Een andere keer was een groepje van patiënten, die onderling in nauw contact waren geweest, ziek met voornamelijk verschijnselen van de abortieve vorm van de ziekte van HEINE-MEDIN, terwijl één van hen aan meningitis leed (285).

In deze groep b is ook een aantal patiënten met meningitis opgenomen, die lijdende waren aan meningitis met exantheem (207, 223, 224, 225, 239, 246, 252, 265) en waarbij veelal een hoog (tot 6000/3) aantal cellen in de liquor cerebrospinalis werd gevonden (169, 180, 222, 224, 232, 239, 293 *). Voorts werd in deze groep een geval van meningitis gepaard met neuritis optica acuta (280) opgenomen. (Infectie met poliomyelitis-virus, als oorzaak van neuritis optica wordt door WALSH als hoogst onwaarschijnlijk beschouwd.)

Tenslotte zijn er diverse patiënten met meningitis meegerekend, waarvan een andere oorzaak dan poliomyelitis voor de hand lag, bijvoorbeeld meningitis na bof (200, 210, 212, 294) of na mazelen (237). Daar er tussen deze gevallen en de vormen van meningitis, die zeer goed bij poliomyelitis konden passen (of waar deze diagnose op grond van contact met poliomyelitis-patiënten werd vermoed) te veel overgangsvormen bestonden, leek het ons niet verantwoord een aantal af te splitsen, te meer waar dit op te weinig gegevens zou berusten.

ad c. Tot deze groep werden 19 patiënten (tabel 12c) gerekend met de diagnose encephalitis, zoals ons zonder meer werd meegedeeld, of met verschijnselen van encephalitis of meningo-encephalitis (althans zonder slappe paralyse). Wel werden enkele vormen van paralyse vermeld, maar aangezien de oorzaak hoger gelocaliseerd leek dan de kernen van rugmergs- of hersenzenuwen en de verschijnselen samengingen met andere encephalitis-verschijnselen, zijn ze niet bij de groep der paralyse gerangschikt. Zo werd het optreden vermeld van passagère hemiparese bij twee patiënten, bij één van hen (298) vergezeld van oogspierverlammingen en meningeale prikkelingsverschijnselen met een zeer hoog celgehalte in de liquor (2200/3) en bij de andere met convulsies (313). Een patiëntje (296) toonde centrale facialisparalyse naast andere verschijnselen van meningo-encephalitis.

Om dezelfde reden als analoge gevallen in de groep der meningitiden,

*) Deze meningitiden werden veroorzaakt door ECHO-virus type 9 (Bos, 1958).

zijn tot de groep der encephalitiden patiënten met encephalitis meegerekend, waarvan de aetiologie waarschijnlijk een andere was dan besmetting met poliomyelitisvirus: encephalitis na rubeola (307) of na primovaccinatie (304, 310, 311, 312).

ad d. Deze groep omvat 21 patiënten, genoemd in tabel 12d, met uiteenlopende verschijnselen die deden denken aan de abortieve vorm van de ziekte van HEINE-MEDIN. Dikwijls werd er contact vermeld met patiënten met vermoedelijke poliomyelitis. Zo werden bijvoorbeeld tot deze groep gerekend enkele patiënten met de verschijnselen hoofdpijn en braken (329, 330, 331) die gezinsleden waren van een patiënt met encephalitis (297). Een ander patiëntje (314) uit deze groep, was een zusje van twee patiëntjes met parese (65, 70) dat enkele dagen hoge koorts had gehad. (In de liquor werden geen afwijkingen gevonden). Ook de drie reeds onder b vermelde kinderen (324, 327, 328), die in nauw contact geweest waren met een patiëntje met meningitis (285), werden in deze groep opgenomen.

ad e. In deze groep zijn 25 patiënten bijeengebracht, (tabel 12e) van wie de verschijnselen later door de klinicus aan een andere ziekte dan poliomyelitis werden toegeschreven of de diagnose poliomyelitis later onwaarschijnlijk werd geacht. Van een aantal van deze gevallen waren ons geen bijzonderheden bekend. In andere gevallen was de waarschijnlijke of bevestigde diagnose: botulisme (349), spieratrofie (352), syndroom van GUILLAIN-BARRÉ (359), myositis cervicalis (350), dwarslaesie (353).

Voorts zijn tot deze groep gerekend enkele patiënten met „febris e causa ignota” (336, 345, 346, 355) of koorts met convulsies bij zeer jonge kinderen (347, 348) of met als enig vermeld verschijnsel „spastisch lopen” (343), gevallen waarvan ons zonder verdere gegevens, de kans dat infectie met poliomyelitisvirus de oorzaak zou zijn, te gering leek. Dit was ook het geval met twee patiënten (337, 338) kamergenoten, die leden aan „pleurodynie”.

Tot deze groep behoorde verder een patiëntje (354) met palatumverlamming, enkele maanden na diphtherie, een vorm die we niet door poliomyelitisvirus veroorzaakt achten.

Wel was het bij enkele patiënten moeilijk te beslissen of we wellicht met abortieve verschijnselen van een infectie met poliomyelitisvirus te maken hadden, bijvoorbeeld bij de patiënten met koorts en convulsies. Er is echter getracht de groep van patiënten met abortieve verschijnselen zoveel mogelijk te beperken tot die gevallen, waarbij om verscheidene redenen aan poliomyelitis werd gedacht (bijvoorbeeld contact met erkende poliomyelitis-patiënten), daar de symptomatologie van de abortieve vorm van de ziekte van HEINE-MEDIN niet specifiek is.

Behalve van de patiënten, ingedeeld in de bovenstaande vijf groepen, werden nog sera onderzocht van 126 klinisch gezonde personen (gegroepeerd in tabel 12f) die in aanraking waren geweest met patiënten met paralyse.

TABEL 12

a. PATIENTEN MET PARALYSE OF PARESE
ingedeeld naar ziekte dag

1. Patiënten van wie bloed in de eerste ziekte week werd afgenomen.

Patiënt			Virus geïsol.	Type	Complementbindingsreactie						Ziekte- dag	Opmerking
No.	Leeft. (jr.)	Gesl.			antigeen A			antigeen B				
					Type							
					1	2	3	1	2	3		
1	5	m	Poliom.	1	—	—	—	0	0	0	4	bulbair
2	1	m	—		0	0	0	16	0	0	7	
3	16	m	Poliom.	2	0	0	0	0	0	0	6	
4	4	v	"	1	—	—	—	4	0	0	7	broer ook [poliom.
5	3	m	"	1	0	0	0	32	0	0	7	
6	2	v	"	1	—	—	—	0	0	0	4	
7	3 mnd	v	"	1	—	—	—	0	0	0	4	
8	3	v	"	1	—	—	—	4	0	0	5	
9	1	m	"	1	—	—	—	4	0	0	5	
10	3	m	"	1	—	—	—	0	0	0	4	
11	4	m	"	1	—	—	—	0	0	0	5	
12	2	v	"	1	—	—	—	0	0	0	6	
13	7	m	Neg.		0	0	0	16	0	0	7	
14	23	m	"		0	0	0	0	0	0	4	
15	30	v	Poliom.	2	—	—	—	16	0	0	7	
16	3	m	—		—	—	—	4	0	0	6	
17	1	v	Poliom.	1	0	0	0	0	0	0	5	
18	5	m	"	1	—	—	—	4	0	0	5	
19	4	v	—		—	—	—	0	0	0	5	
20	3	v	Neg.		—	—	—	0	0	0	4	bulbair
21	2	v	Coxs. B		—	—	—	0	0	0	6	
22	1	m	Poliom.	1	—	—	—	0	0	0	5	
23	5	m	Neg.		—	—	—	0	0	0	5	

2. Patiënten van wie bloed in de tweede ziekte week werd afgenomen.

24	3	v	ECHO	9	—	—	—	16	0	0	8	bulbair
25	9	m	Poliom.	1	—	—	—	16	0	0	10	
26	5	m	"	1	—	—	—	16	0	0	8	
27	1	v	"	1	—	—	—	64	0	0	12	
28	3	v	"	1	—	—	—	0	0	0	8	
29	4	m	Neg.	—	—	—	—	64	0	0	12	
30	25	v	"	—	—	—	—	16	0	0	8	
31	6	v	Poliom.	1	—	—	—	64	0	0	14	
32	30	v	"	1	—	—	—	32	0	8	10	
33	6	m	Neg.	—	—	—	—	16	0	0	8	
34	6	m	Poliom.	1	0	0	0	32	0	0	10	
35	11	m	Neg.	—	—	—	—	0	0	0	8	
36	4	v	Neg.	—	—	—	—	4	0	0	11	
37	1	m	Coxs. A	—	—	—	—	0	0	0	8	
38	3	m	Poliom.	2	0	0	0	8	8	8	13	
39	2	m	"	1	—	—	—	8	0	0	11	
40	6	v	"	1	0	0	0	16	0	0	12	
41	1	v	"	1	0	0	0	64	0	0	12	
42	2	v	"	1	4	0	0	16	0	0	12	
43	8	v	"	1	0	0	0	32	0	0	12	
44	2	v	"	1	0	0	0	16	0	0	8	
45	4	m	"	1	0	0	0	64	0	0	10	

Vervolg TABEL 12 a

Patiënt			Virus geïsol.	Type	Complementbindingsreactie						Ziekte- dag	Opmerking
No.	Leeft. (jr.)	Gesl.			antigeen A			antigeen B				
					Type							
					1	2	3	1	2	3		
46	1	v	Neg.	1	0	0	0	64	0	0	8	bulbair bulbair
47	9	m	Poliom.		—	—	—	32	0	0	12	
48	6 mnd.	m	Neg.		0	0	0	0	0	0	9	
49	3	m	—		—	—	—	0	0	0	10	
50	26	v	—		—	—	—	32	0	0	11	
51	9	m	Neg.	1	—	—	—	32	0	0	12	bulbair bulbair
52	10	v	—		—	—	—	0	0	0	10	
53	4	m	—		—	—	—	64	0	0	10	
54	7	m	Poliom.		—	—	—	32	0	0	8	
55	6	m	Neg.		0	0	0	—	—	—	10	

3. Patiënten van wie later dan de tweede ziekteweek bloed werd afgenomen.

56	2	m	Poliom.	1	0	0	0	64	0	0	18	bulbair
57	4	m	"	1	—	—	—	0	0	0	22	
58	1	m	"	1	16	0	0	32	0	0	22	
59	4	m	—		0	0	0	—	—	—	39	
60	5 mnd.	v	Poliom.	1	—	—	—	8	0	0	19	
61	1	v	"	1	—	—	—	32	0	0	15	bulbair
62	4	v	"	1	4	0	0	8	0	0	20	
63	4	m	Neg.		8	0	0	64	0	0	20	
64	3	m	{ Coxs. A+ Poliom.	1	0	0	0	0	0	0	18	
65	4	v	Poliom.	1	—	—	—	16	0	0	15	
66	6 mnd.	m	—		—	—	—	16	0	0	28	
67	2	v	—		—	—	—	64	0	0	28	
68	?(kind)	v	Poliom.	1	8	0	0	—	—	—	25	
69	1	m	"	2	0	16	0	—	—	—	27	
70	8	v	"	1	—	—	—	16	0	0	21	
71	5	v	ECHO	9	0	0	0	64	0	0	18	
72	4 mnd.	m	Poliom.	1	0	0	0	64	0	0	18	
73	4	m	—		—	—	—	32	4	0	15	

4. Patiënten van wie de ziekteduur onbekend was ten tijde van de bloedafname.

74	26	v	Neg.		—	—	—	32	0	0		
75	6	m	"		—	—	—	16	0	0		
76	5	v	"		—	—	—	16	0	0		
77	5	m	Poliom.	1	0	0	0	8	0	0		
78	1	v	"	1	—	—	—	4	0	0		
79	1	v	Coxs. A		—	—	—	0	0	0		
80	?(volw.)	m	Neg.		—	—	—	64	8	0		
81	4	m	"		—	—	—	64	0	0		
82	?(volw.)	v	"		—	—	—	32	0	0		
83	?(volw.)	m	—		—	—	—	0	0	0		
84	?(kind)	m	Neg.		0	0	0	—	—	—		
85	3	m	Poliom.	1	—	—	—	64	4	4		
86	7	v	"	1	0	0	0	16	0	0		
87	?(kind)	v	"	1	—	—	—	64	0	0		
88	71	m	{ ECHO 9+ Poliom.	1	—	—	—	4	0	0		
89	8	v	—		—	—	—	64	0	0		
90	?(kind)	m	Poliom.	3	0	0	16	—	—	—		
91	4	m	Neg.		—	—	—	16	0	0		
92	32	m	"		—	—	—	64	0	0		

Vervolg TABEL 12 a

5. Patiënten van wie meer dan één serum werd onderzocht.

Patiënt			Virus geïsol.	Type	Complementbindingsreactie						Ziekte- dag	Opmerking
No.	Leeft. (jr.)	Gesl.			antigeen A			antigeen B				
					Type							
					1	2	3	1	2	3		
93	2	m	Poliom.	1	—	—	—	0	0	0	16	
					—	—	—	16	0	0	29	
94	8	m	"	1	0	0	0	8	0	0	6	
					8	0	0	16	0	0	16	
95	4	m	"	1	0	0	0	8	0	0	8	
					8	0	0	64	0	0	34	
96	?(kind)	m	"	1	0	0	0	0	0	0	8	
					8	0	0	64	0	0	23	
97	3	v	"	1	—	—	—	4	0	0	6	
					—	—	—	16	0	0	30	
98	7	m	"	1	0	0	0	—	—	—	12	
					0	0	0	—	—	—	27	
99	2	v	"	1	—	—	—	64	0	0	11	
					—	—	—	64	0	0	37	
100	4	m	"	1	4	0	0	—	—	—	19	
					16	0	0	32	0	0	34	
101	4	m	"	1	0	0	0	0	0	0	15	
					—	—	—	0	0	0	47	
102	4	v	"	1	—	—	—	4	0	0	8	
					—	—	—	32	0	0	34	
103	2	m	"	1	—	—	—	32	0	0	11	
					—	—	—	64	0	0	24	
104	5	m	"	1	—	—	—	0	0	0	17	
					—	—	—	8	0	0	55	
105	3	m	"	1	0	0	0	16	0	0	7	
					—	—	—	16	0	0	41	
106	3	v	"	1	—	—	—	64	0	0	9	
					—	—	—	64	0	0	43	
107	5	m	"	1	0	0	0	16	0	0	6	
					32	0	0	32	0	0	23	
108	3	m	"	1	—	—	—	0	0	0	4	
					—	—	—	16	0	0	42	
109	2	v	"	1	0	0	0	4	0	0	7	
					8	0	0	64	0	0	19	
110	5	m	"	1	0	0	0	—	—	—	5	
					8	0	0	—	—	—	24	
111	6	v	"	1	0	0	0	32	0	0	9	
					—	—	—	16	0	0	42	
112	2	m	"	1	—	—	—	0	0	0	5	
					—	—	—	32	0	0	29	
113	3	v	"	1	0	0	0	8	0	0	6	
					—	—	—	16	0	0	45	
114	3	m	"	1	0	0	0	—	—	—	5	
					32	4	0	—	—	—	23	
115	3	m	"	1	—	—	—	4	0	0	12	
					—	—	—	64	0	0	29	
116	3	v	"	1	0	0	0	64	0	0	7	
					—	—	—	32	0	0	44	
117	4	m	"	1	0	0	0	0	0	0	5	
					0	0	0	0	0	0	21	
					—	—	—	0	0	0	76	

Vervolg TABEL 12 a

Patiënt			Virus geïsol.	Type	Complementbindingsreactie						Ziekte- dag	Opmerking
No.	Leeft. (jr.)	Gesl.			antigeen A			antigeen B				
					Type							
					1	2	3	1	2	3		
118	1	m	Coxs. A+ Poliom.	1	0	0	0	32	0	0	8	bulbair
119	1	m			Coxs. A+ Poliom.	1	0	0	0	28	0	
120	6	v	Poliom.	1			—	—	—	8	0	
121	3	m			„	1	—	—	—	64	0	
122	4	m	„	1			—	—	—	32	0	
123	1	v			ECHO	9	—	—	—	32	0	
124	3	m	„	9			—	—	—	4	0	
125	3	m			Neg.	9	—	—	—	16	0	
126	2	m	„	9			—	—	—	4	0	
127	4	m			„	9	—	—	—	16	0	
128	9	v	„	9			0	0	0	0	0	0
129	4	m			„	9	—	—	—	0	0	0
130	5	m	„	9			0	0	0	0	0	0
131	9	m			„	9	—	—	—	0	0	0
132	10	v	„	9			0	0	8	8	0	0
133	6	v			„	9	32	0	8	32	0	0
134	?(volw.)	m	„	9			0	0	0	0	0	0
135	3	v			„	9	0	0	0	0	0	0
136	13	m	„	9			0	0	0	4	0	0
137	?(volw.)	v			„	9	8	0	0	8	0	0
138	8	m	„	9			—	—	—	16	0	0
139	3	m			„	9	8	0	0	—	—	—
140	1	v	—	9			8	0	0	—	—	—
141	4	v			—	9	0	0	0	32	0	0
142	6	m	—	9			—	—	—	16	0	0
					—	9	0	0	0	0	0	0
			—	9			16	0	0	8	8	0
					—	9	—	—	—	32	8	0
			—	9			0	0	0	0	0	0
					—	9	0	0	0	0	0	0
			—	9			0	0	0	0	0	0
					—	9	—	—	—	0	0	0
			—	9			0	0	0	16	0	0
					—	9	—	—	—	16	0	0
			—	9			—	—	—	64	0	0
					—	9	—	—	—	64	0	0
			—	9			—	—	—	28	0	0
					—	9	0	0	0	16	0	0
			—	9			—	—	—	16	0	0
					—	9	—	—	—	32	0	0
			—	9			—	—	—	32	0	0
					—	9	—	—	—	0	0	0
			—	9			—	—	—	64	0	0
					—	9	—	—	—	8	0	0
			—	9			—	—	—	4	0	0
					—	9	—	—	—	0	0	0
			—	9			—	—	—	8	0	0

Vervolg TABEL 12 a

6. Patiënten met facialisparalyse van wie serum in de eerste ziekte-week werd afgenomen.

Patiënt			Virus geïsol.	Type	Complementbindingsreactie						Ziekte- dag	Opmerking
No.	Leeft. (jr.)	Gesl.			antigeen A			antigeen B				
					Type							
					1	2	3	1	2	3		
143	1	m	Neg.		—	—	—	32	0	0	6	

Serum afgenomen in de tweede ziekte-week.

144	1	m	Poliom.	1	0	0	0	64	0	0	9	
145	2	m	"	1	—	—	—	0	0	0	8	
146	2	m	"	1	—	—	—	32	0	0	10	
147	3	m	Neg.		0	0	0	—	—	—	14	
148	5	m	"		—	—	—	16	0	0	8	
149	12	v	"		—	—	—	0	0	0	8	
150	2	v	"		0	0	0	0	0	0	13	

Serum afgenomen na de tweede ziekte-week.

151	4	m	Poliom.	1	—	—	—	8	0	0	24	
152	3	m	"	1	8	0	0	32	0	0	15	
153	5	m	Neg.		0	0	0	—	—	—	32	
154	24	m	—		0	0	0	0	0	0	25	
155	5	v	—		—	—	—	32	0	0	30	

Patiënt van wie de ziekte-duur vóór bloedafname niet bekend was.

156	?(kind)	v	Poliom.	1	—	—	—	32	0	0		
-----	---------	---	---------	---	---	---	---	----	---	---	--	--

Patiënten van wie meer dan één serum werd onderzocht.

157	5	m	Poliom.	1	0	0	0	0	0	0	17	
					0	0	0	0	0	0	39	
158	2	v	"	1	0	0	0	32	0	0	8	
					32	0	0	64	0	0	27	
					—	—	—	56	0	0	49	
159	6	m	ECHO	9	0	0	0	4	0	0	7	
					8	0	0	16	0	0	27	

7. Patiënt met oculomotoriusparalyse van wie meer dan één serum werd onderzocht.

160	5	m	Neg.		4	0	0	4	0	0	12	
					16	0	0	16	0	0	24	

TABEL 12

b. PATIENTEN MET MENINGITIS

1. Patiënten van wie bloed in de eerste ziekteweek werd afgenomen.

Patiënt			Virus geïsol.	Type	Complementbindingsreactie						Ziekte- dag	Opmerking
No.	Leeft. (jr.)	Gesl.			antigeen A			antigeen B				
					Type							
					1	2	3	1	2	3		
161	4	m	Poliom.	1	0	0	0	4	0	0	6	contact v. 168
162	2	v	"	1	—	—	—	0	0	0	5	
163	1	v	"	1	0	0	0	0	0	0	5	
164	3	m	"	1	—	—	—	16	0	0	7	
165	9	m	"	3	—	—	—	0	0	0	7	
166	11	m	ECHO	9	0	0	0	0	0	0	5	
167	3	m	"	9	0	0	0	0	0	0	6	
168	4	v	Neg.		0	0	0	0	0	0	6	
169	?(volw.)	m	"		0	0	0	0	0	0	6	
170	15	m	"		—	—	—	0	0	0	4	
171	4	m	"		—	—	—	0	0	0	6	
172	3	v	"		—	—	—	0	0	0	7	
173	3	v	"		0	0	0	0	0	0	6	
174	3	m	"		—	—	—	0	0	0	6	
175	11	m	"		—	—	—	0	0	0	7	
176	14	v	"		—	—	—	0	0	0	5	
177	9	m	"		—	—	—	0	0	0	4	
178	4	v	"		—	—	—	0	0	0	4	
179	5	m	"		0	0	0	16	0	0	6	
180	22	m	"		—	—	—	0	0	0	6	
181	6	v	—		—	—	—	0	0	0	7	
182	7	m	—		0	0	0	0	0	0	7	na bof
183	8	v	—		—	—	—	0	0	0	3	

2. Patiënten van wie bloed in de tweede ziekteweek werd afgenomen.

184	3	m	Poliom.	1	0	0	0	—	—	—	8	na bof
185	4	v	"	1	—	—	—	16	0	0	8	
186	6	m	"	1	0	0	0	32	0	0	8	
187	2	m	"	1	0	0	0	32	0	0	9	
188	6	v	"	1	—	—	—	4	0	0	11	
189	15	m	"	1	—	—	—	16	0	0	11	
190	4	m	"	1	—	—	—	64	0	0	14	
191	13	m	ECHO		0	0	0	0	0	0	8	
192	1	m	"	9	0	0	0	0	0	0	8	
193	7	m	"	9	—	—	—	0	0	0	10	
194	7	m	"	9	0	0	0	0	0	0	10	
195	5	v	Coxs. A		—	—	—	0	0	0	8	
196	5	m	"		—	—	—	0	0	0	9	
197	6	m	Neg.		—	—	—	4	0	0	8	
198	6	m	"		—	—	—	0	0	0	8	
199	24	v	"		—	—	—	0	0	0	8	
200	6	m	"		—	—	—	0	0	0	8	
201	8	m	"		—	—	—	0	0	0	8	
202	4	m	"		0	0	0	—	—	—	8	
203	11	v	"		0	0	0	—	—	—	8	
204	12	v	"		0	0	0	0	0	0	8	
205	6	v	"		0	0	0	—	—	—	8	
206	3	m	"		—	—	—	0	0	0	9	exantheem
207	27	v	"		0	0	0	0	0	0	9	

Vervolg TABEL 12 b

Patiënt			Virus geïsol.	Type	Complementbindingsreactie						Ziekte- dag	Opmerking
No.	Leeft. (jr.)	Gesl.			antigeen A			antigeen B				
					Type							
					1	2	3	1	2	3		
208	34	m	Neg.		0	0	0	0	0	0	10	na bof
209	11	v	"		—	—	—	0	0	0	10	
210	9	v	"		—	—	—	8	0	0	10	
211	14	m	"		—	—	—	0	0	0	10	na bof
212	5	v	"		0	0	0	0	0	0	10	
213	31	m	"		—	—	—	0	0	0	11	
214	8	m	"		0	0	0	0	0	0	12	contact v. 168
215	2	m	"		0	0	0	0	0	0	12	
216	52	m	"		—	—	—	0	0	0	12	
217	3	m	"		0	0	0	0	0	0	13	contact v. 168
218	6	m	"		0	0	0	0	0	0	13	
219	?(kind)	m	"		0	0	0	0	0	0	14	
220	4	m	"		—	—	—	0	0	0	14	exantheem exantheem
221	8	v	"		—	—	—	0	0	0	14	
222	4	m	"		0	0	0	0	0	0	14	
223	20	v	"		0	0	0	0	0	0	14	
224	15	m	"		0	0	0	0	0	0	14	
225	13	v	"		0	0	0	—	—	—	14	
226	5	m	—		—	—	—	0	0	0	8	
227	7	v	—		0	0	0	32	0	0	8	
228	2 mnd.	m	—		—	—	—	0	0	0	10	
229	21	m	—		0	0	0	—	—	—	10	

3. Patiënten van wie bloed na de tweede ziekte-week werd afgenomen.

230	8	v	Poliom.	1	—	—	—	8	0	0	18	na mazelen contact v. 168
231	4	m	"	1	64	0	0	—	—	—	40	
232	12	v	Coxs. A		0	0	0	—	—	—	22	
233	7	v	Neg.		0	0	0	—	—	—	15	
234	68	m	"		0	0	0	—	—	—	16	
235	5	m	"		0	0	0	—	—	—	16	
236	?(kind)	m	"		0	0	0	0	0	0	17	
237	6	v	"		0	0	0	0	0	0	17	
238	6	v	"		0	0	0	—	—	—	18	
239	5	v	"		—	—	—	0	0	0	18	
240	31	m	"		0	0	0	—	—	—	30	
241	3	v	"		0	0	0	0	0	0	31	
242	5	m	"		—	—	—	0	0	0	48	
243	2	m	—		0	0	0	—	—	—	30	

4. Patiënten van wie de ziekte-duur niet bekend was.

244	5	m	Poliom.	1	—	—	—	32	0	0	exantheem contact v. 168
245	3	m	"	1	—	—	—	8	0	0	
246	?(kind)	v	ECHO	9	0	0	0	0	0	0	
247	3	v	"	9	0	0	0	—	—	—	
248	14	m	"	9	—	—	—	0	0	0	
249	22	m	Neg.		0	0	0	—	—	—	exantheem
250	19	m	"		—	—	—	4	0	0	
251	22	m	"		—	—	—	4	0	0	
252	?(kind)	v	"		0	0	0	0	0	0	

Vervolg TABEL 12 b

Patiënt			Virus geïsol.	Type	Complementbindingsreactie						Ziekte- dag	Opmerking
No.	Leeft. (jr.)	Gesl.			antigeen A			antigeen B				
					Type							
					1	2	3	1	2	3		
253	?(kind)	v	Neg.		0	0	0	—	—	—	exantheem	
254	?(kind)	m		0	0	0	—	—	—			
255	3	v		0	0	0	—	—	—			
256	31	m		—	—	—	0	0	0			
257	18	m		—	—	—	0	0	0			
258	16	m		—	—	—	0	0	0			
259	7	v		—	—	—	0	0	0			
260	9	m		—	—	—	8	0	0			
261	8	m		—	—	—	0	0	0			
262	3	m		0	0	0	32	0	0			
263	?(volw.)	m		0	0	0	—	—	—			
264	19	v		—	—	—	8	0	0			
265	?(kind)	m		0	0	0	0	0	0			
266	30	v	—	—	—	0	0	0				

5. Patiënten van wie meer dan één serum werd onderzocht.

267	5	v	Poliom.	1	—	—	—	0	0	0	6	
					—	—	—	0	0	0	18	
268	2	v	"	1	—	—	—	0	0	0	5	
					—	—	—	32	0	0	25	
269	7	v	"	1	—	—	—	64	0	0	11	
					—	—	—	32	0	0	35	contact v. 109
270	6	v	"	1	0	0	0	—	0	0	7	
					32	0	0	64	—	—	19	
					64	4	0	32	0	0	34	
271	1	m	"	2	—	—	—	0	0	0	?	
					—	—	—	16	0	0	+8	
272	3	m	{ Coxs. A + Poliom.	1	—	—	—	64	0	0	10	
					—	—	—	64	0	0	38	
273	5	m	ECHO	9	—	—	—	16	0	0	14	
					—	—	—	4	0	0	38	
274	5	m	"	9	—	—	—	0	0	0	9	
					—	—	—	0	0	0	37	
275	12	m	"	9	—	—	—	0	0	0	5	
					—	—	—	16	0	0	12	
276	14	m	"	9	0	0	0	0	0	0	2	
					0	0	0	0	0	0	20	
277	7	m	"	9	—	—	—	0	0	0	?	
					—	—	—	0	0	0	+10	
278	7	m	Coxs. A		—	—	—	0	0	0	7	
					—	—	—	0	0	0	14	
279	7	m	"		—	—	—	0	0	0	5	
					—	—	—	0	0	0	23	
280	16	m	Neg.		0	0	0	—	—	—	12	
					0	0	0	—	—	—	22	
281	13	m	"		—	—	—	0	0	0	6	
					—	—	—	0	0	0	16	
282	17	m	"		0	0	0	0	0	0	12	
					0	0	0	0	0	0	23	
283	6	m	"		—	—	—	64	0	0	5	
					—	—	—	16	0	0	20	

Vervolg TABEL 12 b

Patiënt			Virus geïsol.	Type	Complementbindingsreactie						Ziekte- dag	Opmerking
No.	Leeft. (jr.)	Gesl.			antigeen A			antigeen B				
					Type							
					1	2	3	1	2	3		
284	17	v	Neg.		0	0	0	0	0	0	7	contact v. 276
					0	0	0	0	0	0	25	
285	2	v	„		0	0	0	0	0	0	4	
					0	0	0	0	0	0	53	
286	7	m	„		0	0	0	4	0	0	5	
					—	—	—	4	0	0	45	
287	6	m	„		0	0	0	0	0	0	13	
					—	—	—	32	0	0	99	
288	8	m	„		—	—	—	0	0	0	3	
					—	—	—	8	0	0	15	
289	8	m	„		—	—	—	16	0	0	7	
					—	—	—	32	0	0	17	
290	3	v	„		—	—	—	32	0	8	?	
					—	—	—	32	0	8	+3	
291	6	v	„		—	—	—	8	0	0	?	
					—	—	—	4	0	0	+29	
292	20	m	—		—	—	—	0	0	0	3	na bof
					—	—	—	0	0	0	15	
293	48	m	—		—	—	—	0	0	0	4	
					—	—	—	0	0	0	14	
294	17	v	—		0	0	0	0	0	0	10	
					0	0	0	0	0	0	15	
					0	0	0	0	0	0	23	

TABEL 12

c. PATIENTEN MET ENCEPHALITIS OF MENINGO-ENCEPHALITIS

Patiënt			Virus geisol.	Type	Complementbindingsreactie						Ziekte- dag	Opmerking
No.	Leeft. (jr.)	Gesl.			antigeen A			antigeen B				
					Type							
					1	2	3	1	2	3		
295	3	m	Poliom.	1*)	0	0	0	—	—	—	5	encephalitis
296	5	m	„	1	—	—	—	0	0	0	6	meningo-enc.
297	7	m	„	1	0	0	0	16	0	0	7	encephalitis
298	19	m	ECHO	9	0	0	0	—	—	—	12	meningo-enc.
299	?(volw.)	v	Neg.		0	0	0	0	0	0	4	meningo-enc. en exantheem
300	6	m	„		0	0	0	0	0	0	9	encephalitis
301	2	v	„		0	0	0	0	0	0	11	meningo-enc.
302	60	m	„		0	0	0	0	0	0	14	encephalitis
303	13	m	„		0	0	0	—	—	—	15	„
304	1	m	„		0	0	0	—	—	—	16	encephalitis post-vacc.?
305	53	m	„		0	0	0	—	—	—	30	encephalitis
306	35	m	„		0	0	0	—	—	—	± 90	„
307	9	m	—		0	0	0	—	—	—	14	encephalitis na rubeola
308	65	m	—		0	0	0	—	—	—	23	encephalitis

Patiënten van wie meer dan één serum werd onderzocht.

309	3	m	Poliom.	1	0	0	0	8	0	0	9	encephalitis
					32	0	0	16	0	0	26	
310	21	m	Neg.		0	0	0	—	—	—	5	encephalitis
					0	0	0	—	—	—	8	post-vacc.?
311	?(volw.)	m	„		0	0	0	—	—	—	14	encephalitis
					0	0	0	—	—	—	19	post-vacc.?
312	22	m	„		0	0	0	—	—	—	6	encephalitis
					0	0	0	—	—	—	46	post-vacc.?
313	2	m	„		—	—	—	0	0	0	?	encephalitis
					—	—	—	0	0	0	+18	

*) Tijdens het leven uit de faeces, post mortem uit pons, mesencephalon en medullaoblongata.

TABEL 12

d. PATIENTEN WAARSCHIJNLIJK LIJDENDE AAN DE ABORTIEVE FORM VAN POLIOMYELITIS.

Patiënt			Virus geïsol.	Type	Complementbindingsreactie						Ziekte- dag	Opmerking
No.	Leeft. (jr.)	Gesl.			antigeen A			antigeen B				
					Type							
					1	2	3	1	2	3		
314	1	v	Poliom.	1 1	16	0	0	32	0	0	12	contact v. 65
315	3	v	„		—	—	—	64	0	0	?	
316	3	v	Coxs. A		—	—	—	0	0	0	9	
317	4	m	Neg.		—	—	—	0	0	0	3	
318	11	v	„		—	—	—	0	0	0	7	
319	7	v	„		0	0	0	0	0	0	8	
320	2	m	„		—	—	—	0	0	0	9	
321	?(kind)	v	„		0	0	0	—	—	—	12	
322	7	m	„		—	—	—	0	0	0	17	
323	1	m	„		0	0	0	0	0	0	27	
324	39	m	„		0	0	0	—	—	—	28	
325	6	m	„		—	—	—	0	0	0	47	
326	10	m	„		—	—	—	0	0	0	?	
327	?(kind)	v	—		0	0	0	0	0	0	4	
328	?(kind)	v	—	0	0	0	0	0	0	9	contact v. 327 contact v. 297 contact v. 297 contact v. 297	
329	9	m	—	0	0	0	4	0	0	8		
330	6	v	—	0	0	0	32	0	0	10		
331	6	v	—	0	0	0	16	0	0	12		
332	7	v	—	—	—	—	64	0	0	14		

Patiënten van wie meer dan één serum werd onderzocht.

333	5	m	Poliom.	1	0	0	0	8	0	0	9	contact v. 285
					—	—	—	4	0	0	70	
334	7	v	—		0	0	0	0	0	0	5	
					0	0	0	0	0	0	16	

TABEL 12

c. PATIENTEN MET ANDERE DIAGNOSE OF LATER GECORRIGEERDE DIAGNOSE.

Patiënt			Virus geïsol.	Type	Complementbindingsreactie						Ziekte- dag	Opmerking
No.	Leeft. (jr.)	Gesl.			antigeen A			antigeen B				
					Type							
					1	2	3	1	2	3		
335	12	v	Poliom.	3	0	0	0	—	—	—	?	pneumonie en hepatitis
336	8	v	ECHO	9	0	0	0	0	0	0	14	febris e.c.i.
337	22	v	Neg.		0	0	0	0	0	0	17	pleurodynie
338	22	v	„		0	0	0	0	0	0	14	pleurodynie
339	23	m	„		—	—	—	0	0	0	6	contact v. 337 later: „geen poliom.”
340	3	m	„		—	—	—	0	0	0	8	later: „geen poliom.”
341	8	v	„		0	0	0	—	—	—	16	„poliom.?”
342	3	m	„		0	0	0	—	—	—	18	„
343	52	m	„		0	0	0	—	—	—	21	„
344	5	v	„		0	0	0	—	—	—	34	„
345	18	v	„		0	0	0	0	0	0	?	febris e.c.i.
346	34	v	„		0	0	0	0	0	0	?	„
347	2	m	„		0	0	0	0	0	0	12	„convulsies”
348	1	m	„		0	0	0	0	0	0	?	„
349	?(volw.)	v	„		0	0	0	—	—	—	11	„poliom. of botulisme”
350	7	m	„		0	0	0	—	—	—	20	myositis cervicalis
351	20	m	„		0	0	0	—	—	—	21	myelitis post-vacc.
352	68	v	„		0	0	0	—	—	—	70	spieratrofie
353	49	v	„		0	0	0	0	0	0	?	men.-myelitis
354	5	v	—		0	0	0	0	0	0	?	dwarslaesie paralyse na diphtherie

Patiënten van wie meer dan één serum werd onderzocht.

355	35	v	ECHO	9	—	—	—	0	0	0	8	febris e.c.i.
356	8	m	Neg.		—	—	—	0	0	0	24	
357	3	m	"		—	—	—	0	0	0	4	later: „geen poliom.”
358	34	m	"		—	—	—	0	0	0	18	„poliom.?”
359	7	m	"		0	0	0	—	—	—	+	
					0	0	0	—	—	—	7	"
					0	0	0	—	—	—	12	
					0	0	0	—	—	—	55	
					0	0	0	0	0	0	13	syndr. van Guillain- Barré
					0	0	0	0	0	0	19	

TABEL 12

f. GEZONDE CONTACTPERSONEN VAN POLIOMYELITISGEVALLEN.

(In groepen gerangschikte personen zijn gezinsleden of huisgenoten)

Patiënt			Virus geïsol.	Type	Complementbindingsreactie						Opmerking
No.	Leeft. (jr.)	Gesl.			antigeen A			antigeen B			
					Type						
					1	2	3	1	2	3	
360	3	v	Poliom.	1				4	0	0	gezinslid poliom.pat.
361	6	v	Neg.					32	0	0	
362	37	m	Poliom.	1				0	0	0	
363	6	v	"	1				8	0	0	
364	31	v	Neg.					0	0	0	
365	4	v	"					16	0	0	
366	3	m	Poliom.	1				16	0	0	
367	32	m	Neg.					0	0	0	
368	30	v	"					0	0	0	
369	9	v	"					0	0	0	
370	6	v	"					0	0	0	
371	1	v	"					16	0	0	
372	6	m	Poliom.	1				8	0	0	
373	4	m	"	1				64	0	0	
374	30	v	Neg.					0	0	0	
375	6	m	Poliom.	1				64	0	8	
376	12	m	Neg.					0	0	0	
377	43	m	"					0	0	0	
378	2	v	Poliom.	1				4	0	0	
379	9	v	Neg.					16	0	0	
380	9	v	"					4	0	0	
381	6	v	"					4	0	0	
382	13	m	"					0	0	0	
383	15	v	"					0	0	0	
384	5	v	Poliom.	1				4	0	0	
385	7	m	Neg.					8	0	0	
386	4	m	Poliom.	1				16	0	0	
387	8	m	"	1				0	0	0	
388	6	v	Neg.					0	0	0	
389	15	m	Poliom.	1				0	0	0	
390	38	v	Neg.					0	0	0	
391	36	m	"					0	0	0	Poliom.virus type 1 geïsoleerd bij gezinslid
392	29	v	"					4	0	0	
393	5	m	"					16	0	0	
394	1	m	"					0	0	0	
395	3	v	"					16	0	0	gezinslid poliom.pat. (No. 34)
396	36	m	"					0	0	0	
397	6	v	"					8	0	0	Poliom.virus type 1 geïsoleerd bij gezinslid
398	9	m	"					0	0	0	
399	8	v	"					0	0	0	
400	5	v	"					0	0	0	

Vervolg TABEL 12 f

Patiënt			Virus geïsol.	Type	Complementbindingsreactie						Opmerking
No.	Leeft. (jr.)	Gesl.			antigeen A			antigeen B			
					Type						
					1	2	3	1	2	3	
401	45	m	Neg.	9 9 9 9 9				0	0	0	idem
402	38	v	"					0	0	0	
403	37	m	"					0	0	0	idem
404	39	m	"					0	0	0	
405	35	v	"					0	0	0	
406	14	m	"					4	0	0	
407	6	v	"					4	0	0	
408	16	v	ECHO					0	0	0	
409	12	v	"					0	0	0	
410	8	v	"					0	0	0	
411	4	m	"					0	0	0	
412	6	m	"					0	0	0	
413	49	m	Neg.					0	0	0	
414	44	v	"					0	0	0	
415	10	v	"					0	0	0	
416	7	v	"					4	0	0	
417	41	m	"					0	0	0	
418	5	v	"					16	0	0	
419	6	m	"					16	0	0	
420	25	v	"					4	0	0	
421	8	m	"					8	0	0	
422	45	m	"					0	0	0	
423	11	m	"					0	0	0	
424	6	m	"					8	0	0	
425	33	v	"					0	0	0	
426	7	v	"					8	0	0	
427	45	m	"					0	0	0	
428	48	v	"					0	0	0	
429	16	m	"				0	0	0		
430	11	v	"				0	0	0		
431	6	v	"				0	0	8		
432	7	v	"				0	0	0		
433	14	v	"				0	0	0		
434	34	v	"				0	0	0		
435	33	m	"				0	0	0		
436	11	m	"				0	0	0		
437	9	m	"				0	0	0		
438	8	v	"				0	0	0		
439	6	v	"				0	0	0		
440	32	m	"				0	0	0		
441	32	v	"				0	0	0		
442	10	v	"				0	0	0		

Vervolg TABEL 12 f

Patiënt			Virus geïsol.	Type	Complementbindingsreactie						Opmerking	
No.	Leeft. (jr.)	Gesl.			antigeen A			antigeen B				
					Type							
					1	2	3	1	2	3		
443	35	m	Neg.					0	0	0		
444	29	v	"					0	0	0		
445	6	v	"					0	0	0		
446	6	m	"					0	0	0		
447	4	m	"					0	0	0		
448	52	m	"					0	0	0		
449	44	v	"					0	0	0		
450	21	v	"					0	0	0		
451	19	m	"					0	0	0		
452	9	v	"					0	0	0		
453	9	m	"					0	0	0		
454	8	v	"					0	0	0		
455	36	m	"					0	0	0		
456	39	m	"					0	0	0		
457	38	m	"					0	0	0		
458	50	v	"					0	0	0		
459	9	v	"					0	0	0		
460	48	m	"					0	0	0		
461	39	m	"					0	0	0		
462	33	v	"					0	0	0		
463	36	v	"					0	0	0		
464	7	m	Poliom.	1	16	0	0	16	0	0		familielid poliom.pat. (No. 63)
465	1	m	"	1	8	0	0	8	0	0		
466	3	v	Coxs. A		—	—	—	16	0	0		
467	?(volw.)	v	—		0	0	0	—	—	—		contact v. 358
468	?(kind)	m	—		0	0	0	—	—	—		"
469	22	m	—		0	0	0	—	—	—		contact v. 312
470	22	m	—		0	0	0	—	—	—		"
471	21	m	—		0	0	0	—	—	—		"
472	21	m	—		0	0	0	—	—	—		"
473	20	m	—		0	0	0	—	—	—		"
474	24	m	—		0	0	0	—	—	—		"
475	22	m	—		0	0	0	—	—	—		"
476	22	m	—		0	0	0	—	—	—		"
477	21	m	—		0	0	0	—	—	—		"
478	22	m	—		0	0	0	—	—	—		"
479	22	m	—		0	0	0	—	—	—	"	
480	22	m	—		0	0	0	—	—	—	"	
481	21	m	—		0	0	0	—	—	—	"	
482	21	m	—		0	0	0	—	—	—	"	
483	21	m	—		0	0	0	—	—	—	"	
484	21	m	—		0	0	0	—	—	—	"	
485	22	m	—		0	0	0	—	—	—	"	

Van deze groep maakte een aantal personen deel uit van een onderzoek, elders beschreven. (BORGHANS-DELVAUX c.s. 1957). Bij dit onderzoek dat tot doel had de besmettingskansen op school en in het gezin te vergelijken, werden leerlingen en personeel van een kleuterschool en van een lagere school, evenals gezinsleden van de schoolkinderen, virologisch en serologisch (door middel van de complementbindingsreactie) onderzocht. Op deze scholen hadden zich drie gevallen van poliomyelitis voorgedaan.

Voorts werden in deze groep nog drie kinderen opgenomen, die in nauw contact waren geweest met een patiëntje, lijdende aan de paralytische vorm van poliomyelitis, welke diagnose serologisch bevestigd werd (63).

§ 3. RESULTATEN DER COMPLEMENTBINDINGSREACTIES MET SERA VAN PATIENTEN EN CONTACTEN VAN PATIENTEN

Zoals in de vorige paragraaf vermeld, bedroeg het totaal der serologisch — door middel van de complementbindingsreactie — onderzochte personen 485. Het grootste gedeelte van deze personen, namelijk 410, werd met de drie types van antigeen B onderzocht. Met de antigenen A werd de complementbindingsreactie op sera van 204 personen uitgevoerd. Van 129 patiënten of contactpersonen werden reacties met beide antigeensoorten verricht.

De resultaten der complementbindingsreacties per groep van patiënten met een bepaalde klinische vorm van de ziekte van HEINE-MEDIN, zijn in de tabellen 16 tot en met 20 gerangschikt. Dit geschiedde voor de antigeensoorten A en B afzonderlijk (boven- en benedengedeelte van een tabel) in samenhang met de resultaten van virologisch onderzoek. Wat de gezonde contactpersonen betreft, deze zijn op 19 na, allen op complementbindende antilichamen onderzocht met de antigenen B. Alleen de met deze laatste antigeensoort verkregen resultaten zijn vermeld in tabel 21.

Niet van alle 485 serologisch onderzochte personen werd virologisch onderzoek der faeces verricht. Dit was wel het geval bij 425 van hen. Een overzicht van deze resultaten, die hier tevens werden verdeeld over de verschillende groepen van onderzochten, wordt in tabel 13 gegeven. Zoals uit deze tabel blijkt, werd in 133 gevallen poliomyelitisvirus gevonden. De verdeling der types, tot welke deze stammen behoorden, was als volgt: 125 waren stammen van het type 1, bij 5 patiënten werden stammen van het type 2 en bij 3 patiënten stammen van het type 3 gevonden.

Bij enkele patiënten, bij wie poliomyelitisvirus type 1 werd aangetoond (inbegrepen bij de bovengenoemde groep van 125 personen) werd bovendien uit de faeces nog een andere virussoort geïsoleerd. Bij 4 patiënten was deze virussoort: Coxsackievirus groep A en bij 1 patiënt: ECHO-virus type 9.

Van 71 van de 160 patiënten met paralyse werden de sera met de antigenen A (tabel 16, boven) en van 148 patiënten met de antigenen B onderzocht (tabel 16, beneden).

Bij 24 van de 71 patiënten (= 34%), die serologisch onderzocht werden met de antigenen A, werden positieve complementbindingsreacties gevonden (zie ook tabel 14).

Bij 68 patiënten werden de faeces virologisch onderzocht, in 42 gevallen werd poliomyelitisvirus aangetoond. In 16 van deze 42 gevallen van poliomyelitis, of in 38%, werden homologe complementbindende antilichamen gevonden (zie ook tabel 23 kolom 1, d).

Zoals ook uit kolom 1 (A) van tabel 23 blijkt, werd bij 38% van de 68

TABEL 13

Resultaat van virologisch onderzoek bij patiënten met verschillend klinisch beeld en bij contactpersonen.

	virologisch onderzoek						Totaal
	Poliom. virus	ECHO- virus	Coxs. virus A	Coxs. virus B	Neg.	niet ver- richt	
paralytische vorm	89	5	2(+3)	1	47	16	160
meningitis	22	14(+1)	5(+1)		78	15	134
encephalitis	4	1			12	2	19
abortieve vorm	3		1		10	7	21
andere diagnose	1	2			21	1	25
totaal	119	22	8	1	168	41	359
gezonde contact- personen	14	5	1		87	19	126
TOTAAL	133	27	9	1	255	60	485

De tussen haakjes geplaatste getallen geven de aantallen patiënten aan bij wie de betrokken virussoort in combinatie met poliomyelitisvirus type 1 werd aangetoond en zijn reeds inbegrepen bij het aantal patiënten vermeld in de eerste kolom.

TABEL 14

Resultaat van de complementbindingsreactie bij patiënten met verschillend klinisch beeld en bij contactpersonen.

	antigeen A		antigeen B	
	aantal sera onderzocht	aantal positief	aantal sera onderzocht	aantal positief
paralytische vorm	71	24 = 34%	148	112 = 76%
meningitis	63	2 = 3%	113	35 = 31%
encephalitis	17	1	8	2
abortieve vorm	12	1	19	7
andere diagnose	20	0	15	0
gezonde contactpersonen	21	2	107	33 = 31%
TOTAAL	204	30	410	189

TABEL 15

Vergelijking van het resultaat van virologisch onderzoek en van complement-bindingsreactie op poliomyelitis bij alle onderzochte personen.

<i>Antigeen A</i> compl.bind.r. positief voor	virologisch onderzoek								
	Poliomyelitisvirus type			ECHO- virus	Coxs. virus A	Coxs. virus B	neg.	niet ver- richt	totaal
	1	2	3						
type 1	20			1			7		28
type 2		1							1
type 3			1						1
negatief	32	2	1	13	1		87	38	174
totaal	52	3	2	14	1		94	38	204
<i>Antigeen B</i>									
type 1	96	2		5	1		65	18	187
type 2		1							1
type 3							1		1
negatief	22	1	1	20	7	1	152	17	221
totaal	118	4	1	25	8	1	218	35	410

TABEL 16

Vergelijking van de resultaten van het virologisch onderzoek en van de complementbindingsreactie op poliomyelitis bij patiënten met paralyse.

compl.bind.r. positief voor	virologisch onderzoek								
	Poliomyelitisvirus type			ECHO- virus	Coxs. virus A	Coxs. virus B	neg.	niet ver- richt	totaal
	1	2	3						
<i>Antigeen A</i>									
type 1	14			1			7		22
type 2		1							1
type 3			1						1
negatief	24	2		3			15	3	47
totaal	38	3	1	4			22	3	71
<i>Antigeen B</i>									
type 1	65	1		3			30	12	111
type 2		1							1
type 3									
negatief	15	1		2	2	1	12	3	36
Totaal	80	3		5	2	1	42	15	148

virologisch en serologisch onderzochten alleen poliomyelitis geïsoleerd, in 24% vielen de resultaten van de beide onderzoeksmethodes positief uit en in 12% werden alleen complementbindende antilichamen gevonden. In 74% wezen de resultaten van virusisolatie of complementbindingsreactie dus op de diagnose poliomyelitis.

Van de 148 met de antigenen B onderzochte patiënten met paralyse bleken 112 of 76% (zie ook tabel 14) aantoonbare complementbindende antilichamen te bezitten.

Virologisch onderzoek werd bij 133 van deze 148 patiënten verricht; 83 patiënten bleken poliomyelitisvirus uit te scheiden. Bij 67 van deze 83 patiënten — of bij 81% — werden complementbindende antilichamen aangetoond, bij één patiënt waren deze uitsluitend tegen een ander type gericht dan het geïsoleerde. De resultaten van de 133 virologisch en serologisch onderzochte patiënten zijn in het kort aangegeven in tabel 23, kolom 1 B: in 12% werd alleen poliomyelitisvirus geïsoleerd, in 50% werd de diagnose virologisch en serologisch bevestigd en in 25% werden alleen complementbindende antilichamen aangetoond. In 87% wezen de resultaten van één van beide of van beide onderzoeksmethodes op de diagnose poliomyelitis.

Van de groep der paralyses zijn de patiënten met gezichts- of oogspierverlamming (hun aantal bedroeg 18) nog eens in een aparte tabel (17) gerangschikt. Hieruit blijkt dat een aantal van de patiënten met deze aandoening een infectie met poliomyelitisvirus doormaakte of een recente infectie doorgemaakt had: 4 van de 10 serologisch met de antigenen A onderzochte patiënten hadden met dit antigeen aantoonbare comple-

TABEL 17

Vergelijking van de resultaten van het virologisch onderzoek en van de complementbindingsreactie op poliomyelitis bij 18 patiënten met perifere, facialis- of oculomotorius paralyse

compl.bind.r. positief voor	virologisch onderzoek				
	Poliom.- virus type 1	ECHO- virus	negatief	niet ver- richt	totaal
<i>antigeen A</i>					
type 1	2	1	1		4
negatief	2		3	1	6
totaal	4	1	4	1	10
<i>antigeen B</i>					
type 1	6	1	3	1	11
negatief	2		2	1	5
totaal	8	1	5	2	16

mentbindende antilichamen en van de 16 met de antigenen B onderzochten was dit bij 11 patiënten (69%) het geval. Van 16 patiënten werd de ontlasting op de aanwezigheid van virus onderzocht, in 8 gevallen werd poliomyelitisvirus geïsoleerd.

Van 63 van de 134 patiënten, lijdende aan meningitis, werden sera op de aanwezigheid van complementbindende antilichamen onderzocht met de antigenen A en van 113 met de antigenen B (tabel 18).

Bij 2 van de 63 met de antigenen A onderzochten werden complementbindende antilichamen aangetoond. In de groep der met de antigenen B onderzochten was dit bij 35 van de 113 (31%) het geval.

Bij 56 patiënten werd zowel virologisch onderzoek der faeces als de complementbindingsreactie met de antigenen A verricht. Bij 7 patiënten kon poliomyelitisvirus worden aangetoond en bij 2 van deze 7 patiënten (tevens van de gehele groep) konden complementbindende antilichamen tegen het homologe type worden aangetoond. Er werden dus geen patiënten gevonden met uitsluitend complementbindende antilichamen, aantoonbaar met deze antigenen A.

Met de antigenen B werden daarentegen, zoals uit vergelijking van de kolommen 2 A en 2 B van tabel 23 blijkt, bij 17% uitsluitend complementbindende antilichamen aangetoond. Het aantal patiënten met meningitis, dat zowel op de aanwezigheid van virus in de ontlasting als van complementbindende antilichamen in het serum (met de antigenen B) werd onderzocht, bedroeg 101. Bij 20 patiënten werd poliomyelitisvirus aangetoond, waarbij in 80%, namelijk bij 16 patiënten, de complementbindingsreactie positief bleek te zijn (in één geval uitsluitend voor een heteroloog type). In 4% werd alleen poliomyelitisvirus en in 16% der onderzochten

TABEL 18

Vergelijking van de resultaten van het virologisch onderzoek en van de complementbindingsreactie op poliomyelitis bij patiënten met meningitis.

compl.bind.r. positief voor	virologisch onderzoek								
	Poliomyelitisvirus type			ECHO- virus	Coxs. virus A	Coxs. virus B	neg.	niet ver- richt	totaal
	1	2	3						
<i>antigeen A</i>									
type 1	2								2
negatief	5			8	1		40	7	61
totaal	7			8	1		40	7	63
<i>antigeen B</i>									
type 1	15	1		2			15	2	35
negatief	3		1	11	4		49	10	78
totaal	18	1	1	13	4		64	12	113

werden zowel poliomyelitisvirus als complementbindende antilichamen aangetoond.

In de groep van patiënten met encephalitis of meningo-encephalitis werden — met de antigenen A en B — uitsluitend bij die patiënten uit wier faeces poliomyelitisvirus werd geïsoleerd, complementbindende antilichamen aangetoond (tabel 19).

TABEL 19

Vergelijking van de resultaten van het virologisch onderzoek en van de complementbindingsreactie op poliomyelitis bij patiënten met encephalitis.

compl.bind.r. positief voor	virologisch onderzoek				
	Poliom.- virus type 1	ECHO- virus	neg.	niet ver- richt	totaal
<i>antigeen A</i>					
type 1	1				1
negatief	2	1	11	2	16
totaal	3	1	11	2	17
<i>antigeen B</i>					
type 1	2				2
negatief	1		5		6
totaal	3		5		8

TABEL 20

Vergelijking van de resultaten van het virologisch onderzoek en van de complementbindingsreactie op poliomyelitis bij patiënten vermoedelijk lijdende aan de abortieve vorm van poliomyelitis.

compl.bind.r. positief voor	virologisch onderzoek				
	Poliom.- virus type 1	Coxs. virus A	neg.	niet ver- richt	totaal
<i>antigeen A</i>					
type 1	1 (1)				1 (1)
negatief	1		4	6 (3)	11 (3)
totaal	2 (1)		4	6 (3)	12 (3)
<i>antigeen B</i>					
type 1	3 (1)			4 (3)	7 (4)
negatief		1	8	3	12
totaal	3 (1)	1	8	7 (3)	19 (4)

De tussen haakjes staande getallen geven de aantallen contactpersonen aan van patiënten.

Dit was ook het geval bij patiënten, vermoedelijk lijdende aan de abortieve vorm van poliomyelitis (tabel 20) althans bij de patiënten bij wie ook de ontlasting virologisch was onderzocht. Met de antigenen B werden nog complementbindende antilichamen aangetoond bij 4 patiënten wier faeces niet waren onderzocht. Van 3 dezer patiënten was bekend dat zij in aanraking waren geweest met een paralytische patiënt, bij wie poliomyelitisvirus was aangetoond.

Bij 33 (31%) van de 107 klinisch gezonde contactpersonen, wier sera waren onderzocht met de antigenen B (tabel 21), werden complementbindende antilichamen aangetoond (zie ook tabel 14).

De faeces van 19 personen *) werden niet onderzocht, zij waren allen in aanraking geweest met patiënten van wie de diagnose poliomyelitis virologisch noch serologisch kon worden bevestigd en tenslotte bleken ook de complementbindingsreacties van deze 19 personen alle negatief te zijn.

Van de overige 107 personen werd in 14 gevallen (zie ook tabel 23, kolom 3) poliomyelitisvirus aangetoond. Bij 11 van deze 14 personen (79%) werden complementbindende antilichamen van het homologe type gevonden. Deze 11 personen vormen 10% van de bovengenoemde 107 onderzochten, bij 3% werd alleen poliomyelitisvirus aangetoond en in 21% uitsluitend complementbindende antilichamen.

Zoals uit tabel 21 blijkt, bevatten alle sera van de „directe” — voor zover bekend — contactpersonen van poliomyelitispatiënten (personen, die in de onmiddellijke omgeving van een patiënt leefden) complementbindende antilichamen.

De personen met complementbindende antilichamen voor type 1 waren afkomstig uit 19 gezinnen (tabel 22) waarvan in totaal 61 leden serologisch

TABEL 21

Vergelijking van de resultaten van het virologisch onderzoek en van de complementbindingsreactie op poliomyelitis bij gezonde contactpersonen.

compl.bind.r. positief voor	virologisch onderzoek				
	Poliom.- virus type 1	ECHO- virus	Coxs. virus A	neg.	totaal
<i>antigeen B</i>					
type 1	11 (3)		1 (1)	20 (4)	32 (8)
type 3				1	1
negatief	3	5		66	74
totaal	14 (3)	5	1 (1)	87 (4)	107 (8)

De tussen haakjes staande getallen geven aantallen „directe” contactpersonen aan van poliomyelitispatiënten.

*) Deze zijn niet in tabel 21 vermeld.

TABEL 22

Vergelijking van de resultaten van het virologisch onderzoek en van de complementbindingsreactie op poliomyelitis per gezin bij gezonde contactpersonen.

	Aantal gezamenlijke leden van gezinnen, waarin	
	bij één of meer leden poliomyelitisvirus type 1 werd geïsoleerd	bij geen der leden poliomyelitisvirus werd geïsoleerd, maar één of meer leden compl. b. antil. bleken te bezitten
	47	19
Aantal personen met positieve complementb. r. voor type 1 (antigeen B)	23 = 49%	9 = 47%

waren onderzocht. In een aantal gezinnen — bestaande uit 47 leden van wie de complementbindingsreactie was verricht — kwamen personen voor bij wie poliomyelitisvirus in de faeces was aangetoond. Bij 23 van deze 47 leden, of in 49%, werd een positieve complementbindingsreactie gevonden. Van de gezinnen waarin geen virusdragers werden gevonden maar wel personen met een positieve complementbindingsreactie, werden 19 personen serologisch onderzocht. Bij 9 van hen — of in 47% — was de reactie positief.

De percentages van het aantal personen met een positieve complementbindingsreactie onder de gezamenlijke leden van de gezinnen waarin (a) virusuitscheiders voorkwamen of (b) slechts personen met complementbindende antilichamen, bleken in deze twee groepen niet veel te verschillen.

Een overzicht van de resultaten van het totaal der onderzochten is gegeven in tabel 15 en tabel 23, kolom 4.

Wat de resultaten met de antigenen A betreft, blijkt dat bij 21% van de 166 virologisch én serologisch onderzochte personen, poliomyelitisvirus werd geïsoleerd zonder dat complementbindende antilichamen konden worden aangetoond; bij 13% werden ook deze antilichamen gevonden en bij 5% werden uitsluitend complementbindende antilichamen aangetoond.

Met de antigenen B werden 375 personen onderzocht bij wie ook virologisch onderzoek der faeces werd verricht; bij 6% werd alleen poliomyelitisvirus geïsoleerd; bij 26% waren de resultaten van virologisch en serologisch onderzoek positief en bij 19% werden uitsluitend complementbindende antilichamen gevonden.

De percentages der gevallen waar alleen op grond van de complementbindingsreactie een aanwijzing bestond voor de diagnose poliomyelitis, waren voor de met de antigenen A en B onderzochten respectievelijk 5% en 19%.

Het percentage van patiënten of contactpersonen met een positieve

TABEL 23

Overzicht der resultaten bij personen van wie serum op complementbindende antilichamen en faeces virologisch was onderzocht.

compl. bind. reactie verricht met	1. Patiënten met paralyse		2. Patiënten met meningitis		3. Contact- personen	4. Totaal aantal onderzochten		5. Totaal aantal met beide antigenen onderzochten	
	A	antigeen B	A	antigeen B		A	antigeen B	A	antigeen B
Aantal	68	133	56	101	107	166	375	117	
a. alleen poliomy.v. geïsoleerd	26 = 38%	16 = 12%	5 = 9%	4 = 4%	3 = 3%	35 = 21%	24 = 6%	31 = 26%	7 = 6%
b. poliomy.v. geïso- leerd en compl. bind.r. positief	16 = 24%	67 = 50%	2 = 4%	16 = 16%	11 = 10%	22 = 13%	99 = 26%	16 = 14%	40 = 34%
c. alleen compl. b. r. positief	8 = 12%	33 = 25%	0	17 = 17%	22 = 21%	8 = 5%	72 = 19%	7 = 6%	17 = 15%
d. b/a + b	16/42 = 38%	67/83 = 81%	2/7 = 29%	16/20 = 80%	11/14 = 79%	22/57 = 39%	99/123 = 80%	16/47 = 34%	40/47 = 85%
e. b/a + b bij pa- tiënten van wie een serumpaar werd onderzocht						11/14 = 79%	31/35 = 89%		

complementbindingsreactie van degenen die poliomyelitisvirus bleken uit te scheiden, bedroegen met de antigenen A 39%, met de antigenen B 80% (tabel 23, kolom 4, d). Over het algemeen bleken deze percentages weinig te variëren bij de verschillende klinische vormen; bij de paralytische patiënten waren deze percentages vrijwel gelijk aan die der gehele groep: in de groep der reacties verricht met de antigenen A 38% en met de antigenen B 81%. In de groep der patiënten met meningitische verschijnselen, waarin het aantal virusuitscheiders veel kleiner was, waren deze percentages 29% en 84%. In de groep van klinisch gezonde contactpersonen die poliomyelitisvirus uitscheidde, bedroeg dit percentage met antigeen B type 1, 79%.

De verhouding tussen het aantal patiënten met uitsluitend complementbindende antilichamen en het aantal bij wie ook poliomyelitisvirus kon worden aangetoond veranderde wel met de diagnose.

Bij patiënten met paralyse was deze verhouding 1 : 2 (namelijk 8 : 16 voor patiënten bij wie complementbindende antilichamen waren aangetoond met antigeen A, en 33 : 67 voor patiënten bij wie dit was geschied met antigeen B). Bij patiënten met meningitis was deze verhouding ongeveer als 1 : 1 met antigeen B (namelijk 17 : 16). Met de antigenen A daarentegen werden in deze groep geen patiënten gevonden met uitsluitend complementbindende antilichamen. Slechts bij 2 patiënten, die poliomyelitisvirus bleken uit te scheiden was de complementbindingsreactie positief.

Juist bij deze vorm van poliomyelitis werden met de antigenen B relatief veel gevallen opgespoord die een infectie met poliomyelitisvirus doormaakten of kort te voren hadden doorgemaakt. Dit geldt nog sterker voor de contactpersonen, bij wie complementbindende antilichamen waren aangetoond met de antigenen B: de verhouding tussen het aantal personen met alleen complementbindende antilichamen tot het aantal dat bovendien virus bleek uit te scheiden, was als 1 : 0,5 (namelijk 22 : 11).

Van een aantal onderzochte patiënten werd slechts één serum verkregen waarin, zoals later bleek, geen complementbindende antilichamen konden worden aangetoond. Van een gedeelte van deze patiënten zou de reactie, indien in een later afgenomen serum herhaald, zeker positief geweest zijn. Het bleek namelijk, dat bij 79% van de patiënten, uit wier faeces poliomyelitisvirus werd geïsoleerd en van wie meer dan één serum werd onderzocht, complementbindende antilichamen in een der sera met de antigenen A werden aangetoond. Dit percentage bedroeg voor het totale aantal virusuitscheiders, wier sera met de antigenen A werden onderzocht, slechts 39%. Met het type 1 van de antigenen B was het verschil in deze percentages minder groot (namelijk 89% en 80%).

Met de antigenen A werden minder positieve resultaten verkregen dan met de antigenen B, althans met type 1. De oorzaken hiervan, en in het algemeen, de verschillen in resultaten verkregen met de beide antigeensoorten, zullen worden besproken in het volgende hoofdstuk.

§ 4. RESULTATEN VAN DE COMPLEMENTBINDINGSREACTIES MET SERA VAN PATIENTEN VAN WIE MEER DAN EEN SERUM WERD ONDERZOCHT

Van een betrekkelijk klein gedeelte der onderzochte personen, namelijk 94, kon meer dan één serum onderzocht worden. Bij uitzondering werden meer dan twee sera voor onderzoek ingezonden. De resultaten van de complementbindingsreacties, met de sera van deze groep patiënten verricht, worden in het volgende besproken.

De periode tussen de afname van het eerste en het tweede serum wisselde sterk evenals de tijdsduur van het begin der symptomen tot de afname van het eerste serum.

Bij meer dan de helft der patiënten (49) bedroeg de tijdsduur tussen het afnemen van de beide sera 1 tot 3 weken en bij bijna drie kwart 1 tot 5 weken. Bij 13 patiënten was het interval langer (bij enkele patiënten tot bijna 3 maanden). Met een interval korter dan 1 week werden de beide sera verzameld van 12 patiënten.

Van 15 patiënten was ons de duur der ziekte tot de eerste venapunctie niet bekend. Bij 41 patiënten werd binnen 1 week na het begin der ziekte voor de eerste maal bloed voor serologisch onderzoek afgenomen. Bij 31 patiënten geschiedde dit in de loop van de tweede ziekte-week en bij 7 patiënten had deze eerste bloedafname meer dan twee weken na het begin der symptomen plaats.

Tot de 94 patiënten van wie meer dan één serum werd onderzocht behoorden 54 patiënten met paralyse, 28 patiënten met meningitis, 5 patiënten met encephalitis, 2 personen die vermoedelijk aan de abortieve vorm van poliomyelitis leden en 5 patiënten die waarschijnlijk een andere aandoening hadden dan poliomyelitis.

Bij 39 van 94 patiënten werd poliomyelitisvirus aangetoond. Met de antigenen A werden van 35 patiënten, met de antigenen B werden van 84 patiënten sera onderzocht.

Een overzicht van de resultaten wordt gegeven in tabel 24.

1. *Verandering van de titers der complementbindende antilichamen in gepaarde sera.*

Met de antigenen A werden complementbindende antilichamen in één of meer sera van 18 van de 35 onderzochte patiënten aangetoond; in de sera van 17 patiënten werd een vier- of meervoudige titerstijging waargenomen. Bij 11 van deze 17 patiënten (of bij 65%) werd poliomyelitisvirus aangetoond.

Bij 11 van de 14 patiënten, die poliomyelitisvirus bleken uit te scheiden (zie eerste kolom van tabel 24) — of bij 79% — werden complementbindende antilichamen tegen het homologe type gevonden, bij allen met een vier- of meervoudige titerstijging.

Met de antigenen B werden de sera van 84 patiënten onderzocht.

TABEL 24

Vergelijking van de resultaten van virologisch onderzoek en van de veranderingen van de titers der complementbindende antilichamen tegen poliomyelitisvirus in gepaarde sera.

compl.bind.r. positief voor	virologisch onderzoek						
	Poliom.v. type			ECHO- virus	Coxs. virus A	neg.	niet ver- richt
	1	2	3				
<i>antigeen A</i> type 1							
stijging { 4 ×	11		1			5	17
titers gelijk { 2 ×						1	1
daling { 2 ×							
negatief { 4 ×							
	3	1				11	17
totaal	14	1	1			17	35
<i>antigeen B</i> type 1							
stijging { 4 ×	14	1	2			6	25
titers gelijk { 2 ×	6					3	9
daling { 2 ×	6					6	12
negatief { 4 ×	5					3	9
			1			1	2
	4		6	2		11	27
totaal	35	1	9	2		30	84

Het totaal der onderzochte serumparen bedroeg 94.

Complementbindende antilichamen tegen deze antigenen werden in één of meer sera van 57 patiënten gevonden.

Bij 34 patiënten (60%) bleek de titer der complementbindende antilichamen te stijgen: bij 25 patiënten (44%) werd een vier- of meervoudige titerstijging waargenomen.

Bij 23 van de 25 patiënten met een vier- of meervoudige titerstijging had virologisch onderzoek van de ontlasting plaats; bij 15 van deze patiënten (65%) werd poliomyelitisvirus aangetoond.

Bij 31 van de 35 patiënten (of bij 89%) uit wier faeces poliomyelitisvirus type 1 werd geïsoleerd (zie tabel 24, eerste kolom) werden complementbindende antilichamen tegen type 1 gevonden. Bij 14 van deze 31 patiënten (of bij 40%) werd een vier- of meervoudige titerstijging en bij 6 patiënten (17%) een tweevoudige titerstijging gevonden. Stationnaire titers werden bij 6 patiënten (17%) en een tweevoudige titerdaling werd bij 5 patiënten (15%) waargenomen.

Poliomyelitisvirus type 2 werd geïsoleerd uit de ontlasting van 1 patiënt; bij het onderzoek van zijn sera werd evenwel een viervoudige stijging van de titer der complementbindende antilichamen tegen type 1 gevonden. (Antilichamen tegen type 2 werden niet aangetoond.)

Zoals verwacht mocht worden was het gedeelte van de patiënten met complementbindende antilichamen onder de patiënten-virusuitscheiders groter bij onderzoek van meer dan één serum dan wanneer slechts één serummonster onderzocht werd.

Het verschillend percentage titerstijgingen, waargenomen in de titraties met de antigenen A en B, moet geweten worden aan de, in het volgende hoofdstuk te bespreken verschillen in ziekteduur, voordat complementbindende antilichamen met een van deze antigeensoorten aangetoond konden worden.

Bij 15 van de 17 patiënten (of bij 88%), in wier sera een vier- of meervoudige titerstijging ten opzichte van de antigenen A werd waargenomen, konden met deze antigenen geen complementbindende antilichamen in het eerste serum worden aangetoond. Ten opzichte van de antigenen B was dit bij 14 van de 34 patiënten (met twee- of meervoudige titerstijging) het geval, ofwel bij 41%.

De titerstijging bleek maximaal te zijn — zowel tegen de antigenen A als tegen de antigenen B — indien het eerste serum in de eerste ziekte-week en het tweede serummonster in de derde of vierde ziekte-week werd afgenomen. Dit gold zowel voor patiënten, bij wie het onderzoek op poliomyelitisvirus positief uitviel, als voor diegenen bij wie geen poliomyelitisvirus kon worden aangetoond. Bij enkele patiënten echter werd slechts een gering verschil in titer gezien, hoewel hun serummonsters in de eerste en de vierde ziekte-week werden verkregen, terwijl een vier- of meervoudige titerstijging werd gezien in enkele sera, met een interval van 1 week afgenomen.

Stationnaire titers en titerdalingen werden in gelijke mate gevonden bij patiënten, uit wier faeces poliomyelitisvirus werd gekweekt en bij patiënten, die geen virus bleken uit te scheiden. Titerdalingen werden vooral gezien als de periode tussen het afnemen van serummonsters groot was. Stationnaire titers werden voornamelijk gevonden in die sera, welke met een zeer korte interval — minder dan één week — waren afgenomen.

Ook andere onderzoekers vonden verschillende verhoudingen van de titers der homologe complementbindende antilichamen in gepaarde sera. GODENNE en RIORDAN (1955) vonden bij 93% van de patiënten uit wier ontlasting poliomyelitisvirus werd gekweekt, complementbindende antilichamen; bij 49% steeg de titer, bij 32% bleef deze gelijk en bij 12% werd een titerdaling gevonden.

LENNETTE en SCHMIDT (1957) konden bij 66% van de patiënten, in wier faeces poliomyelitisvirus werd aangetoond, een titerstijging tegen het

infecterende type aantonen. Bij 30% van deze patiënten vonden zij stationnaire titers. Bij nauwkeurige beschouwing van de resultaten van hun onderzoek — dat zich bij een aantal patiënten uitstrekte tot een tijdsduur van 2 jaar na het begin der ziekte — blijkt, dat bij sommige patiënten reeds zeer vroeg in de ziekte een maximale titer gevonden werd (of als een hoge begintiter ofwel voorafgegaan door een kortdurende stijging) gevolgd door een daling die reeds vóór het eind van de eerste ziektemaand of in het verloop van de tweede ziektemaand begon.

MELNICK c.s. (1954) zagen resultaten, die doen denken aan de resultaten welke wij vonden bij de titraties met de antigenen A: eerst na vrij lange ziekteduur konden antilichamen aangetoond worden (bij 15 van de 40 patiënten eerst na 1 maand); de titraties van de acute-fase-sera vielen meestal negatief uit zodat er vaak een groot titerverschil gevonden werd. Bij enkele patiënten vonden zij evenwel slechts een tweevoudige titerstijging, stationnaire titers of een titerdaling.

Van slechts enkele patiënten werden meer dan twee sera onderzocht, zodat geen conclusies uit dit onderzoek met betrekking tot het latere verloop van de titer der complementbindende antilichamen getrokken kunnen worden.

In één geval (270) werden in het serum, afgenomen op de 7e ziektedag geen antilichamen met de antigenen A gevonden, op de 19e ziektedag bedroeg de titer 32 en twee weken later 64.

Met de antigenen B werden bij patiënt 95 in de sera, van de respectievelijk 8e, 34e en 89e ziektedag, als titers 8, 64 en 4 gevonden tegen type 1.

Bij patiënt 158 werden eveneens met de antigenen B in de sera van de respectievelijk 8e, 27e en 49e ziektedag antilichamen tegen type 1 aangetoond met titers 32, 64 en 56 *).

Bij patiënt 154 vonden wij op de 13e, 35e en 78e ziektedag met de antigenen B titers van respectievelijk <4, 8 en 32 tegen type 1.

Tenslotte werd bij patiënt 137 (ziekteduur vóór afname van het eerste serum ons niet bekend) een gelijkblijvende titer van 64 in de eerste twee sera — met een tussenpoos van 9 dagen afgenomen — 10 dagen later bleek de titer in het derde serum twee maal gedaald te zijn. Ook de titratie van deze sera had met de antigenen B plaats.

Bij deze patiënten werden dus ten opzichte van dezelfde antigenen (B) gevonden:

1. een titerstijging en -daling in het verloop van 3 maanden;
2. een zeer langzame titerstijging, totdat bijna 3 maanden na het ziektebegin een maximale titerhoogte bereikt werd;
3. een hoge titer reeds vroeg na het begin der symptomen, die in het verloop van bijna twee maanden stationnair bleef.

*) Enkele malen worden in de tabellen titers van 28 of 56 vermeld: door tekort aan serum bij het inzetten van de proef werd als beginverduunning niet 1:4 maar 1:7 verkregen.

Uit het onderzoek van LENNETTE en SCHMIDT (1957) blijkt duidelijk het wisselvallige verloop van de titer der homotypische complementbindende antilichamen. Bij een aantal patiënten vonden zij reeds op de 3e ziektedag een maximale titer (of zeer vroeg na een voorafgaande stijging), die gedurende lange tijd stationnair bleef, bij anderen steeg de titer zo langzaam, dat zelfs in het verloop van 4-8 weken geen viervoudige stijging waar te nemen was. Er bleek geen duidelijk verband te bestaan tussen de maximale antilichaamspiegel en de snelheid of mate van titerdaling. Bij alle patiënten met complementbindende antilichamen werd de maximale titer binnen drie maanden na het begin der ziekte gevonden. De curve welke het cumulatieve percentage van de patiënten in wier sera de hoogste titer gevonden werd, aangeeft met betrekking tot de duur der ziekte had een vrijwel lineair verloop tot ongeveer 3 maanden na het begin der ziekte.

Tenslotte vonden deze onderzoekers dat bij 55% van de onderzochte patiënten nog twee jaar na het begin der ziekte complementbindende antilichamen tot een titer van 4 aanwezig waren, na 1 jaar bij ongeveer 66%, na 6 maanden werden deze antilichamen nog bij 90% gevonden.

De aanwezigheid van antilichamen — althans in lage titer — zou dus aanleiding kunnen geven tot onjuiste gevolgtrekkingen met betrekking tot de aetiologie van een bestaande ziekte.

2. Bespreking van de gevallen waarin het virologisch onderzoek of de complementbindingsreactie in gebreke bleef.

Verscheidene malen viel het onderzoek van de faeces op poliomyelitisvirus negatief uit, terwijl in de sera van dezelfde patiënt een duidelijke titerstijging gevonden werd. Meermalen werden geen complementbindende antilichamen bij patiënten-virusuitscheiders gevonden, hoewel de sera op dusdanige tijdstippen waren afgenomen dat een positieve uitslag verwacht mocht worden.

Het is bekend, dat bij een — gering — percentage van de paralytische patiënten geen poliomyelitisvirus kan worden aangetoond. Bij patiënten lijdende aan de niet-paralytische vormen van de ziekte van HEINE-MEDIN zou dit percentage hoger zijn (v.GODENNE c.s. 1955).

Door 5 van de 39 patiënten (of door 13%), uit wier faeces poliomyelitisvirus werd geïsoleerd, werden geen aantoonbare complementbindende antilichamen gevormd.

Bij 1 van deze 5 patiënten was het eerste serum afgenomen op de 18e ziektedag; titratie van een later afgenomen serum zou mogelijk een positieve uitslag hebben opgeleverd. Bij de overige 4 patiënten mochten in één der sera antilichamen worden verwacht.

Voorts werden bij 5 patiënten met paralyse, bij wie het virologisch onderzoek een negatieve uitslag had, geen complementbindende antilichamen aangetoond. Ook van deze patiënten waren de sera op zodanige tijdstippen afgenomen, dat een positief resultaat verwacht mocht worden.

Ook andere onderzoekers konden bij een gedeelte der patiënten geen complementbindende antilichamen aantonen. Dit was zowel het geval met sera van patiënten, bij wie poliomyelitisvirus gevonden werd, als met sera van paralytische patiënten, in wier faeces geen virus werd aangetoond.

CASALS (1951a) onderzocht met muizehersen-antigeen type 2, (dat niet typespecifiek was) de sera van patiënten, die leden aan een infectie met type 1, of van patiënten met paralyse bij wie het virus niet kon worden aangetoond. In beide groepen kwamen patiënten voor zonder antilichamen.

BLACK en MELNICK (1954) en MELNICK c.s. (1954), die werkten met weefselkweekantigenen van de drie types, vonden in 10% tot 15% van de gevallen met positieve virusisolatie, geen complementbindende antilichamen.

Ook GODENNE en RIORDAN (1955) konden bij 4 van de 57 patiënten (7%) bij wie het virus gevonden werd, geen complementbindende antilichamen aantonen. (Bij twee van deze patiënten werden bovendien geen neutraliserende antilichamen gevonden.)

LENNETTE en SCHMIDT (1957) die een aantal patiënten tot twee jaar na de ziekte vervolgden, konden eveneens geen complementbindende antilichamen aantonen bij twee van de 51 patiënten (4%) bij wie het virus gevonden werd en evenmin bij een patiënt met paralyse, bij wie geen virus werd geïsoleerd.

BLACK (1955) constateerde dat een kleine groep patiënten overblijft, die nooit complementbindende antilichamen ontwikkelen, hoewel poliomyelitisvirus kan worden geïsoleerd.

Ook bij dierproeven is iets dergelijks gevonden: POLLARD c.s. (1952) zagen dat sommige apen na vele intramusculaire injecties met virus, nog geen aantoonbare complementbindende antilichamen vormden en CASALS c.s. (1952b) konden deze antilichamen niet aantonen bij sommige per os geïnfecteerde apen met paralyse.

Tenslotte blijft een groep van 23 patiënten over zonder complementbindende antilichamen, patiënten die niet leden aan paralyse en bij wie poliomyelitisvirus niet kon worden aangetoond.

Meer dan de helft van deze patiënten toonde verschijnselen van meningitis. Uit de faeces van 8 patiënten werd Cocksackie- of ECHO-virus geïsoleerd.

Bij 7 patiënten was de tijdsduur tussen de afname van de beide serummonsters zeer kort (4 à 5 dagen) of was het tweede serum zó vroeg afgenomen, (vóór de 18e ziektedag) dat hierdoor de negatieve resultaten verklaard zouden kunnen worden.

In de andere gevallen had waarschijnlijk geen infectie met poliomyelitisvirus plaats gehad, zoals bij de patiënten met meningitis na bof of meningitis met neuritis optica, of bij de patiënten die leden aan „een andere ziekte dan poliomyelitis”.

IV

BESPREKING DER RESULTATEN IN SAMENHANG MET GEGEVENS VAN HET VIROLOGISCH ONDERZOEK

§ 1. VERSCHIL IN RESULTATEN DER COMPLEMENTBINDINGSREACTIES BIJ GEBRUIK VAN DE ANTIGENEN A OF B

Zoals reeds eerder vermeld werden de patiëntensera onderzocht met twee antigeensoorten: de antigenen A en de antigenen B. Er ontstonden opvallende verschillen in resultaten bij titratie van patiëntensera met elk der antigeensoorten, welke nader dienden te worden onderzocht.

Van een aantal sera werden complementbindingsreacties verricht zowel met de antigenen A als B. Zij waren afkomstig van 127 patiënten en 2 contactpersonen. Van 117 donores van serum werden faeces onderzocht, 57 van hen leden aan paralyse, 38 hadden verschijnselen van meningitis, 6 van encephalitis of meningo-encephalitis, 4 van de abortieve vorm van poliomyelitis en 10 patiënten leden aan een andere dan de ziekte van HEINE-MEDIN. Ook van de beide contactpersonen werden faeces onderzocht.

Het resultaat van het virologische onderzoek was als volgt: bij 59 patiënten of contactpersonen werden één of meer virussoorten gevonden; bij 47 werd poliomyelitisvirus gekweekt, 45 van het type 1 (bij 3 patiënten bovendien Cocksackievirus groep A) en 2 met type 2. Bij de overige 12 patiënten werd ECHO-virus type 9 gevonden. (Tabel 25).

Virologisch niet onderzocht werden 2 patiënten met paralyse, 4 met meningitis en 6 met waarschijnlijk de abortieve vorm van de ziekte van HEINE-MEDIN.

Naar de resultaten der reacties bij de 47 personen van wie bekend was dat zij het virus herbergden zullen wij ons richten bij de verdere beschouwingen.

1. *Invloed van de antigeensoort op de gevoeligheid van de reactie*

Van de 47 patiënten en contactpersonen, die poliomyelitisvirus bleken uit te scheiden, bezaten 16 (34%) met antigeen A en 40 (85%) met antigeen B aantoonbare antilichamen (zie tabellen 25 en 26).

Alle sera, die een positieve reactie gaven met antigeen A, deden dit eveneens met antigeen B. Dit was ook het geval met 7 sera van patiënten bij wie geen virus werd aangetoond. Van deze categorie gaven sera van 17 patiënten positieve reacties met antigeen B.

TABEL 25

Vergelijking van de resultaten van de complementbindingsreactie op poliomyelitis met beide antigenen.

Aantal sera onderzocht met beide antigenen: 129

Aantal donores van deze sera, wier faeces virologisch werden onderzocht: 117

compl.bind.r. positief voor	virologisch onderzoek					
	Polio.m.v. type		ECHO- virus	neg.	niet verricht	totaal
	1	2				
<i>antigeen A</i>						
type 1	16		1	6		23
negatief	29	2	11	52	12	106
totaal	45	2	12	58	12	129
<i>antigeen B</i>						
type 1	39		2	15	5	61
type 2		1				1
negatief	6	1	10	43	7	67
totaal	45	2	12	58	12	129

TABEL 26

Vergelijking van de resultaten van de complementbindingsreactie op poliomyelitis met beide antigenen, naar klinisch beeld en resultaat van virologisch onderzoek.

	Polio.m.virus geïsoleerd			Polio.m.virus niet geïsoleerd			Virol. onderzoek niet verricht			totaal
	totaal	pos. voor antigeen		totaal	pos. voor antigeen		totaal	pos. voor antigeen		
		A	B		A	B		A	B	
paralytische vorm	36	11	30	21	7	14	2	0	1	59
meningitis	5	1	4	33	1	3	4	0	1	42
encephalitis	2	1	2	4	0	0				6
abortieve vorm	2	1	2	2	0	0	6	0	3	10
andere diagnose				10	0	0				10
contact- personen	2	2	2							2
totaal	47	16	40	70	8	17	12	0	5	129

De titers, in de gevallen waar beide reacties positief waren zowel ten opzichte van antigeen A als antigeen B, waren niet even hoog.

Daar echter de reacties met de verschillende antigenen niet onder dezelfde omstandigheden welke van invloed waren op de titer, plaats hadden, kon een verband tussen de verkregen titerhoogten nauwelijks verwacht worden. Wel kwamen bij het gebruik van de antigenen B uitkomsten van 64 of meer dikwijls voor: met de antigenen A waren ze een uitzondering. Van de 24 sera (afkomstig van 23 patiënten) die voor type 1 zowel met antigeen A als met antigeen B, een positieve reactie gaven, hadden 15 een hogere titer met B, 5 eenzelfde titer en 4 een lagere titer met B dan met A.

Van 10 patiënten werd meer dan 1 serum onderzocht, welke met behoorlijke tussenruimte waren afgenomen. Bij 2 van deze patiënten (117, 157) konden in geen der sera antilichamen worden aangetoond. Daar in de overige 8 gevallen (94, 95, 96, 107, 109, 158, 270, 309) met antigeen A de reacties der eerste sera (in verdunning 1 : 4) steeds negatief bleken te zijn en de titers in het tweede serum in vier gevallen 8 en in vier gevallen 32 bedroegen was er een titerstijging van meer dan $2 \times$ tot meer dan $8 \times$. Bij deze 8 patiënten was in één geval in het eerste serum met antigeen B de reactie negatief in de laagste verdunning, in de overige gevallen waren er reeds duidelijk aantoonbare antilichamen tegen type 1: de titers lagen tussen 8 en 32. Daar niet hoger dan de verdunning 1 : 64 werd getitreerd en deze titer in 4 gevallen in het tweede serum bereikt werd, was de mate van titerstijging niet altijd precies vast te stellen. Deze wisselde van meer dan het 2- tot 16-voudige.

Bij deze door middel van de weefselkweek bevestigde gevallen van poliomyelitis, zagen we zowel met de antigenen A als B een titerstijging van de onderzochte serumparen, met uitzondering van twee „laat afgenomen” sera (270) waar met antigeen B in het eerste een hoge en in het tweede een lage titer werd waargenomen.

Van de patiënten bij wie geen poliomyelitisvirus kon worden aangetoond, waren er zes (125, 127, 130, 134, 159, 160) van wie serumparen werden onderzocht, waarbij positieve reacties werden gevonden. Bij slechts één van hen werd een positieve reactie met lage titer tegen type 1 van antigeen A in het eerste serum gevonden, de sera uit de acute fase van de vijf overige patiënten waren negatief. De titers van de tweede sera lagen tussen 8 en 32; ook hier een meer dan twee- tot achtevoudige stijging.

Met de antigenen B waren de reacties van twee der acute-fase-sera in de laagste verdunning negatief; de titers van de overige eerste sera bedroegen 4 of 8. De titerstijging ten opzichte van de antigenen B varieerde van tenminste 2 tot 16 maal.

Bij vergelijking van de titerverhoudingen in deze serumparen ten opzichte van een van beide antigenen, blijkt dat, wanneer er een titerstijging

was ten opzichte van de antigenen A dit ook het geval was met de antigenen B (met uitzondering van het serumpaar 270).

De titerstijging was dikwijls hoger ten opzichte van de antigenen A, wat onder andere blijkt uit het volgende: 13 serumparen toonden een titerstijging tegen beide antigeensoorten. De titerstijging ten opzichte van de antigenen A was in alle serumparen vier- of meervoudig. In 8 serumparen was de titerstijging ten opzichte van de antigenen vier- of meervoudig, en in 5 serumparen tweevoudig met de antigenen B.

In virologisch bevestigde gevallen van infectie met poliomyelitisvirus kon dus, indien het eerste serum niet te laat afgenomen werd en er aantoonbare antilichamen gevormd werden, een titerstijging ten opzichte van beide antigeensoorten waargenomen worden, met één van beide een vier- of meervoudige.

Het komt ons voor dat ook een geringe titerstijging als sterke aanwijzing voor de diagnose mag worden beschouwd.

Ook GODENNE c.s. (1955) meenden, dat de opvatting, als zou alleen een vier- of meervoudige stijging van de titer der antilichamen van diagnostische waarde zijn, niet is aan te houden, aangezien vaak reeds in het acute-fase-serum antilichamen gevonden worden en de complementbindingsreactie op poliomyelitis zwak is.

2. Verschil in tijdstip na het begin van de ziekte, waarop antilichamen met beide antigeensoorten aangetoond konden worden

Verwacht mocht worden dat bij een groot gedeelte van de 47 patiënten bij wie poliomyelitisvirus werd aangetoond, zich antilichamen zouden ontwikkelen.

Daar er van vele patiënten slechts één serum en van weinigen meer dan twee sera werden onderzocht, leende dit materiaal zich uiteraard niet tot het nagaan van de variatie die er bestond in snelheid en mate van ontwikkeling van aantoonbare complementbindende antilichamen. Wel kon worden nagegaan, op welke dag gerekend van het begin der symptomen, bij deze patiënten antilichamen van het homologe type het vroegst konden worden aangetoond.

Van twee patiënten en de beide contactpersonen was de duur sinds het begin der ziekte, respectievelijk sinds het contact onbekend.

Met de antigenen A werden, zoals boven vermeld, in de eerste monsters der serumparen geen complementbindende antilichamen gevonden. Deze sera waren afgenomen tussen de 6e en de 9e ziektedag. Alle reacties, op sera afgenomen vóór de 12e ziektedag waren negatief. Indien men de sera van de twee patiënten, die gedurende het ziektebeloop geen antilichamen bleken te vormen, buiten beschouwing laat, waren alle reacties van sera, afgenomen na de 18e ziektedag positief. Tussen de 12e en de 18e ziektedag werden zowel positieve als negatieve reacties gevonden. Van de 12 sera,

afgenomen in deze ziekteperiode hadden 4 een positieve en 8 een negatieve reactie.

Met het homologe type van het antigeen B werden complementbindende antilichamen op zijn vroegst aangetoond in sera afgenomen op de 6e ziektedag. Indien men de reeds genoemde patiënten, die geen antilichamen in aantoonbare mate bleken te vormen, buiten beschouwing laat, waren ook hier alle sera afgenomen na de 18e ziektedag positief. Van de 36 sera afkomstig van de ziekteperiode tussen de 6e en 18e dag hadden 32 een positieve en 4 een negatieve reactie.

Van de patiënten met een negatieve reactie in het acute fase serum en een positieve reactie in een later afgenomen serummonster, werd dit vroege serum steeds vóór de 18e ziektedag afgenomen.

Bij patiënten, van wie de diagnose poliomyelitis niet virologisch werd bevestigd, doch waarbij een titerstijging was vastgesteld, werden eveneens geen positieve complementbindingsreacties waargenomen met de antigenen A vóór de 12e ziektedag. Met de antigenen B werden in dergelijke gevallen op zijn vroegst positieve reacties waargenomen eenmaal op de 3e en eenmaal op de 4e ziektedag. Sera uit de acute fase met een negatieve reactie bleken afgenomen te zijn vóór de 14e ziektedag.

Een duidelijk onderscheid tussen de reacties met beide antigeensoorten was de tijdsduur sinds het begin der ziekte, na welke de antilichamen in de sera aantoonbaar bleken te zijn.

We zijn er ons wel van bewust dat de dag, opgegeven als begindag der ziekte allerminst als een vaststaand moment kon worden beschouwd; vooral het tijdstip waarop een patiënt prodromale verschijnselen had gekregen werd dikwijls onder voorbehoud vermeld.

Echter, tussen de 3e en 6e ziektedag met de antigeensoort B en 12e ziektedag met A, waarop het vroegst aantoonbare antilichamen werden gevonden, is het verschil onmiskenbaar.

Van 25 patiënten bij wie poliomyelitisvirus was geïsoleerd, werden met de beide antigeensoorten tussen de 6e en 12e ziektedag sera onderzocht. Met de antigenen A waren, zoals boven vermeld, alle reacties negatief. Met de antigenen B waren er 23 positief voor het homologe type.

Het verschil tussen de beide antigeensoorten uitte zich in de reacties dus niet zozeer in de verkregen titerhoogte maar in de grotere gevoeligheid waarmee complementbindende antilichamen met één der beide antigeensoorten konden worden aangetoond.

Ook bleek, dat het verschil in percentages aan positieve reacties bij deze patiënten met bevestigde diagnose poliomyelitis, voornamelijk berustte op de toevallige verdeling in de tijdstippen van bloedafname van deze patiënten: van 17 patiënten bleek er slechts één serummonster aanwezig te zijn dat uit deze vroege ziekteperiode stamde (6e - 11e dag).

Slechts bij één van hen konden met de antigenen B geen antilichamen worden aangetoond.

Ook tussen de reacties van de sera afgenomen tussen de 12e en 18e dag na het begin der ziekte was er een merkbaar verschil: bij 2 van de 12 patiënten van wie slechts een enkel serum aanwezig was uit deze ziekteperiode, waren met de antigenen B geen antilichamen aan te tonen en met de antigenen A was dit bij 8 patiënten het geval.

Voorts bleek dat bij de groep der patiënten met paralyse, van wie de diagnose poliomyelitis niet door virusisolatie werd bevestigd, de reacties die positief waren met één der types van de antigenen B en negatief met A, allen, voor zover de data bekend waren, verricht waren met sera afgenomen vóór of op de 18e ziektedag.

3. Het voorkomen van heterotypische reacties bij het gebruik van verschillende antigeensoorten.

Bij nadere beschouwing van de resultaten verkregen met de beide antigenen, bleek dat in één geval (270) een heterotypische reactie voorkwam met de antigenen A en niet met B en in één geval (38) met B (ten opzichte van beide andere types) en was de reactie negatief met de antigenen A. Het eerste geval betrof een patiënt uit wiens faeces type 1 werd geïsoleerd met een titerstijging voor het homologe type, bij wie in het derde serum (34e dag) antilichamen in lage titer voor type 2 aantoonbaar waren. In het tweede geval werd type 2 geïsoleerd, er werd één serum onderzocht afkomstig van de 13e ziektedag, waarin antilichamen aanwezig waren in gelijke titer voor de 3 types.

Ook kwamen positieve reacties ten opzichte van meer dan één type voor, bij patiënten die aan paralyse leden maar bij wie geen virus geïsoleerd werd. Zo werd in het eerste serum van patiënt 125 met de antigenen A voor type 3 een titer van 8 gevonden in het tweede serum een titer van 32 voor type 1, met de antigenen B werd voor type 1 in de sera een titerstijging van 8 tot 32 gevonden en viel de reactie tegen type 3 negatief uit. Bij patiënt 134 werden in het tweede en het derde serum een stationnaire titer van 8 gevonden voor type 2 met de antigenen B, terwijl in deze sera voor type 1 een titerstijging van 8 tot 32 werd waargenomen.

In geen van deze gevallen waarbij positieve reacties voor meer dan één type voorkwamen met één antigeensoort, werd deze vondst bevestigd door de reacties met de andere antigeensoort. Bij patiënt 270, bij wie in het laatste serum antilichamen tegen type 2 met de antigenen A aantoonbaar waren in lage titer zou men zich nog kunnen voorstellen dat door ongunstige proefomstandigheden deze antilichamen niet aantoonbaar waren met antigeen B, wat niet ondenkbaar is, daar met type 1 van antigeen B ook een lagere titer verkregen werd dan met type 1 van antigeen A. Bij patiënt 38 zou een dergelijke redenering voor de antigenen A ter verklaring aan-

gevoerd kunnen worden. Bij de twee overige gevallen zijn de verschillen niet te verklaren.

Daar er nog verschillende heterotypische reacties voorkomen bij sera die slechts met één der antigeensoorten zijn onderzocht, zal later uitvoeriger op dit onderwerp worden ingegaan.

Van de patiënten bij wie poliomyelitisvirus werd gevonden, kwam er met elk der antigenen slechts eenmaal een heterotypische reactie voor. Beide tonen zij dus een vrijwel even grote typespecificiteit.

4. Vergelijking van de resultaten met de beide antigeensoorten bij de verschillende klinische diagnoses

Negen en vijftig sera van patiënten met paralyse werden met de beide antigeensoorten onderzocht. Bij 36 van hen werd poliomyelitisvirus gekweekt (zie ook tabel 26). Van deze 36 werden 11 antilichamen van het homologe type met antigeen A aangetoond en bij 30 met het antigeen B, respectievelijk dus 31% en 83%. Bij 21 patiënten kon geen poliomyelitisvirus worden aangetoond, bij 7 van deze werden antilichamen met type 1 van antigeen A aantoonbaar en bij 14 met type 1 van antigeen B. Bij één van beide patiënten bij wie het virologische onderzoek niet werd verricht waren antilichamen tegen type 1 van antigeen B aantoonbaar.

Van de 59 patiënten met paralyse, met beide antigenen onderzocht, werden er bij 18 antilichamen aangetoond met de antigenen A (30%) en bij 45 met antigeensoort B (75%).

Het lagere percentage positieve reacties verkregen met de antigeensoort A, bleek als voornaamste oorzaak te hebben: het tijdstip in de ziekte waarop het serum werd afgenomen.

Ook met de antigenen B zou waarschijnlijk een nog hoger percentage bereikt worden indien van een aantal patiënten het onderzoek later zou zijn herhaald.

In enkele gevallen echter, waar de patiënten (117, 157) poliomyelitisvirus uitscheidde, konden in het beloop van de ziekte geen complement-bindende antilichamen worden aangetoond met beide antigenen. Dit was ook het geval bij 2 patiënten (135, 126) met paralyse, bij wie echter geen poliomyelitisvirus werd gekweekt.

Bij patiënten met andere verschijnselen die minder specifiek waren voor poliomyelitis, bleek een duidelijke samenhang met het aantonen van antilichamen en het kweken van het virus uit de faeces. Tot op zekere hoogte gold dit ook voor de gevallen waarbij het virologische onderzoek niet was verricht: de drie patiënten met abortieve verschijnselen van de ziekte HEINE-MEDIN en een positieve reactie met antigeen B type 1, waren contactpersonen van een geval waarbij poliomyelitisvirus type 1 was geïsoleerd.

Hoewel de positieve resultaten van de reacties met de antigenen A veel minder talrijk waren dan die verkregen met B, leek het ons nuttig ze niet

te verwaarlozen; tot nu toe hadden immers de gevallen met een positieve reactie met antigeensoort A ook een positieve reactie met B; ze zijn dus waarschijnlijk zeer betrouwbaar.

§ 2 *De vorming van complementbindende antilichamen in het verloop van de ziekte*

Door verscheidene onderzoekers is nagegaan op welk tijdstip in het verloop van de ziekte van HEINE-MEDIN op zijn vroegst complementbindende antilichamen konden worden aangetoond. Vergelijking van de resultaten van hun onderzoek laat aanmerkelijke verschillen zien.

Zo vonden CASALS c.s. (1952) bij 11 van de onderzochte 13 patiënten, uit wier ontlasting poliomyelitisvirus werd geïsoleerd, reeds complementbindende antilichamen in de sera, afgenomen in de eerste ziekteweek. Bij 3 patiënten konden zelfs reeds op de eerste ziektedag deze antilichamen aangetoond worden. Een hoge titer (> 32) werd binnen 2 weken na het begin van de ziekte bij de helft van de patiënten gevonden.

Daarentegen vonden BLACK c.s. (1954) en MELNICK c.s. (1954) dat complementbindende antilichamen eerst geruime tijd na het begin van de ziekte aangetoond konden worden. (Uit de faeces van alle hieronder vermelde patiënten werd poliomyelitisvirus geïsoleerd.)

Slechts in 10% van de sera van patiënten, die complementbindende antilichamen vormden werden deze antilichamen binnen twee weken na het ziektebegin aangetoond. Bij 73% van de patiënten werden voor het eerst antilichamen gevonden in de sera, afgenomen in de periode tussen 2 weken en één maand na het begin van de ziekte. De overigen bleken eerst aantoonbare antilichamen te vormen na een maand (BLACK c.s. 1954).

De door MELNICK c.s. (1954) gevonden percentages voor de overeenkomstige perioden bij vergelijkbaar patiëntenmateriaal zijn respectievelijk 15%, 41% en 44%. In één geval werd geconstateerd dat in het serum afgenomen op de 49e ziektedag nog geen en in dat van de 70e ziektedag wel complementbindende antilichamen aanwezig waren.

GODENNE c.s. (1955) vonden daarentegen bij de helft van het aantal patiënten uit wier faeces poliomyelitisvirus werd gekweekt, reeds in de eerste week van de ziekte complementbindende antilichamen.

Ook LENNETTE c.s. (1957) konden reeds snel na het ziektebegin antilichamen aantonen, bij patiënten die virus bleken uit te scheiden. Van de op de 3e ziektedag afgenomen sera bleek 40% complementbindende antilichamen te bevatten. Bij deze patiënten, die gedurende 2 jaar vervolgd werden, steeg de titer echter slechts langzaam. Bij één patiënt echter — die later complementbindende antilichamen zou vormen — was de complementbindingsreactie in het serum, één maand na het ziektebegin nog negatief.

Van het merendeel der patiënten was ons de tijdsduur tussen ziektebegin

en bloedafname bekend. Uit additionele gegevens bleek ons dat steeds met het ziektebegin het begin der prodromale verschijnselen bedoeld werd. hetgeen door ons in de tabellen is overgenomen.

In tabel 27 wordt een overzicht gegeven over het aantal positieve en negatieve resultaten met betrekking tot de ziekte duur vóór de bloedafname bij de patiënten uit wier faeces poliomyelitisvirus werd gekweekt. Als van een patiënt meer dan één serum is onderzocht, worden de bevindingen van al deze sera in de tabel weergegeven. De bevindingen uit dit overzicht zijn slechts in grote trekken te vergelijken met die van de bovengenoemde auteurs, omdat deze het moment waarop antilichamen aangetoond kunnen worden trachtten te vinden door het onderzoeken van een aantal sera op verschillende tijdstippen, bij een patiënt afgenomen, hetgeen ons, zoals reeds eerder vermeld, voor het merendeel der patiënten niet mogelijk was. Daarenboven handelt het genoemde literatuuroverzicht slechts over patiënten, die antilichamen vormden. Zo weten wij bijvoorbeeld van patiënt 1 niet, of in een later van hem afgenomen serum wel antilichamen zouden zijn aangetoond. Bij een enkele patiënt konden wij inderdaad ook in zeer laat afgenomen sera geen complementbindende antilichamen aantonen, zoals tabel 29 over de bevindingen bij patiënten, van wie meer dan één serum werd afgenomen, laat zien. Dit laatste overzicht bevat evenwel te weinig gegevens om hier vergaande conclusies uit te trekken.

In het bovengedeelte van tabel 27 worden de resultaten tegen het homologe type der antigenen A weergegeven. Hieruit blijkt, dat met deze antigenen op zijn vroegst op de 12e ziekte dag antilichamen werden aangetoond. Na de 12e ziekte dag stijgt het percentage der positieve resultaten geleidelijk. Met type 1 van antigeen B werden reeds positieve reacties gezien in sera, afgenomen op de 5e ziekte dag. Het gedeelte der positieve bevindingen neemt snel toe, naarmate de ziekte duur langer wordt. Deze gegevens zijn overzichtelijker gerangschikt — naar ziekte week — in tabel 28. Complementbindende antilichamen tegen antigeen B werden aangetoond in de helft van de sera, afgenomen in de eerste ziekte week en in 9/10 van de sera, afkomstig uit de tweede ziekte week. Het geringere deel der positieve resultaten in de 3e ziekte week is te verklaren, doordat het totaal der in deze week afgenomen sera kleiner is en doordat een relatief groot aantal sera juist in deze week afgenomen werd van patiënten die geen complementbindende antilichamen bleken te vormen.

Ten opzichte van het antigeen A had de toename van het gedeelte met positieve bevindingen geleidelijk plaats.

In tabel 29 zijn de resultaten weergegeven, gevonden bij patiënten, van wie meer dan één serum werd onderzocht. Van de 6 negatieve, onderzocht met antigeen B — uit de 3e ziekte week — bleken er 3 sera afkomstig te zijn van patiënten, die ook later geen antilichamen zouden vormen (patiënt 101; sera afgenomen op de 15e en 47e ziekte dag; patiënt 117: sera van de 5e, 21e en 76e ziekte dag en patiënt 157 met sera van de 17e en

TABEL 27
Titer der sera, aufgenommen op
Ziektedag

		Ziekte dag																													
		3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	en >30	
Titer	64																	1				2				1	1				1
	32																	1			1						1				1
	16									1										1							1				1
	8													1	1			1				1	1	1						1	
	4										1							1	1												1
	<4			6	5	7	8	5	2	4	1	1	1	1	3		1		1								1				1

Tegen antigeen B

[illegible]

TABEL 28

		Ziekteweek			
		1e	2e	3e	4e en later (tot ong. 7e)
<i>Antigeen A</i>					
Titer	$\left\{ \begin{array}{l} 32 \text{ en } 64 \\ 4 \text{ t/m } 16 \\ < 4 \end{array} \right.$		2 = 9%	1 = 8%	6 = 40%
				5 = 42%	7 = 47%
		18 = 100%	20 = 91%	6 = 50%	2 = 13%
		18	22	12	15
<i>Antigeen B</i>					
Titer	$\left\{ \begin{array}{l} 32 \text{ en } 64 \\ 4 \text{ t/m } 16 \\ < 4 \end{array} \right.$	2 = 6%	20 = 49%	8 = 42%	19 = 54%
		14 = 41%	17 = 41%	5 = 26%	12 = 34%
		18 = 53%	4 = 10%	6 = 32%	4 = 11%
		34	41	19	35

TABEL 29

		Ziekteweek			
		1e	2e	3e	4e en later
<i>Antigeen A</i>					
Titer	{ 32 en 64 4 t/m 16 <4			1 = 17%	3 = 30%
				3 = 50%	5 = 50%
		7 = 100%	4 = 100%	2 = 33%	2 = 20%
		7	4	6	10
<i>Antigeen B</i>					
Titer	{ 32 en 64 4 t/m 16 <4	1 = 8%	8 = 57%	2 = 22%	17 = 57%
		5 = 42%	5 = 36%	1 = 11%	10 = 33%
		6 = 50%	1 = 7%	6 = 67%	3 = 10%
		12	14	9	30

39e ziektedag). Twee patiënten bleken eerst later dan de 3e ziekteweek antilichamen te vormen; 93 en 104, (sera van resp. de 29e en 55e ziekte-dag). Van de 6e patiënt (267) was het laatste serum afgenomen op de 18e ziektedag. Deze patiënt zou later nog antilichamen gevormd kunnen hebben.

Ook in deze overzichten is te zien, dat de toename van het gedeelte der positieve resultaten ten opzichte van de antigenen A geleidelijk en laat en van de antigenen B sneller plaats heeft.

Onze resultaten met de antigenen A komen dus enigszins overeen met

de bevindingen van BLACK c.s. en MELNICK c.s. terwijl de resultaten, verkregen met de antigenen B meer te vergelijken zijn met de resultaten van de overige bovenvermelde onderzoekers.

De factoren, die een rol zouden kunnen spelen in de totstandkoming van dit opmerkelijke verschil tussen de beide antigeensoorten werden behandeld in de vorige paragraaf.

Vatten wij het bovenstaande samen, dan blijkt, dat bij patiënten:

1. met de antigenen A van de 12e ziektedag, met de antigenen B reeds van de 5e ziektedag af complementbindende antilichamen konden worden aangetoond,
2. het percentage positieve resultaten in complementbindingsreacties met de antigenen A verricht, geleidelijk en met de antigenen B verricht, snel steeg naarmate de ziekteduur vóór bloedafname langer werd en
3. enkele patiënten geen aantoonbare complementbindende antilichamen vormden, terwijl bij alle patiënten, die blijkens de bevindingen in later onderzochte sera wel complementbindende antilichamen vormden, de reacties verricht met de beide antigeensoorten op de sera later dan de 3e ziekteweek afgenomen, positief uitvielen.

V

SPECIFICITEIT EN TYPESPECIFICITEIT

§ 1. DE SPECIFICITEIT VAN DE COMPLEMENTBINDINGSREACTIE OP POLIOMYELITIS

Reeds eerder vermeldden wij de proeven van CASALS (1950, 1951b) die tot doel hadden de specificiteit van de complementbindingsreactie op poliomyelitis na te gaan. Evenals CASALS onderzocht LE BOUVIER (1953) sera van geïnfecteerde apen door middel van de complementbindingsreactie met muizenhersenen-antigeen en kwam eveneens tot de conclusie dat de reactie specifiek is voor poliomyelitis.

In sera van een aantal niet met poliomyelitisvirus geïnfecteerde Cynomolgus-aper vonden wij geen complementbindende antilichamen tegen één der types van poliomyelitisvirus. Deze werden daarna als negatief referentieserum gebruikt.

Bij een aantal patiënten met een andere aandoening dan poliomyelitis: bof, westelijke equine encephalomyelitis of St. Louis encephalitis, (aetiologie d.m.v. haemagglutineremmingsreactie of complementbindingsreactie vastgesteld) hebben SCHMIDT en LENNETTE (1955) in hun eerste onderzoek de complementbindingsreactie op poliomyelitis beproefd. In enkele sera werd een titer van betekenis, of een stijging van de titer der complementbindende antilichamen tegen poliomyelitisvirus waargenomen. Deze bevindingen werden door de schrijvers geweten aan menginfectie en zij concludeerden uit hun onderzoek dat de complementbindingsreactie op poliomyelitis specifiek is.

Ook bij een later onderzoek (1956) naar het voorkomen van complementbindende antilichamen tegen meer dan één poliomyelitisvirustype in mensensera, hebben zij bij patiënten met bofmeningo-encephalitis (aetiologie door middel van complementbindingsreactie vastgesteld) nagegaan, in hoeverre deze polytypische antilichamen specifiek zijn voor poliomyelitis. Bij verscheidene patiënten vonden zij complementbindende antilichamen tegen één of meer types van het poliomyelitisvirus.

Op één uitzondering na werden steeds ook neutraliserende antilichamen tegen deze types gevonden. Hun conclusie was, dat ook indien complementbindende antilichamen tegen meer dan één type gevonden worden, deze alle specifiek zijn voor poliomyelitis.

Ook in het door ons onderzochte materiaal doen zich aan aantal gevallen voor waarbij het probleem van de specificiteit der complementbindingsreactie zich opdringt.

De specificiteit in ons materiaal nagaande, kunnen wij ons richten naar drie criteria: het klinische, het virologische en het serologische.

Het zal aan ieder, die kennis genomen heeft van het grote aantal gevallen van de paralytische vorm van poliomyelitis in 1956 duidelijk zijn, dat geen der genoemde criteria geheel onaanvechtbaar is.

In de groep der patiënten met een „andere diagnose dan poliomyelitis” werden geen complementbindende antilichamen gevonden. Dat zulk een groep niet geheel vertrouwd kan worden als controlegroep, blijkt uit de gegevens van patiënt 335; deze leed aan pneumonie met hepatitis; uit haar faeces werd — weliswaar na tweede enting van een grotere hoeveelheid — type 3 poliomyelitisvirus geïsoleerd.

Bij een aantal patiënten wier sera complementbindende antilichamen tegen poliomyelitisvirus bevatten, werd een ander virus geïsoleerd: Coxsackievirus groep A of ECHO-virus type 9. Deze werden in enkele gevallen ook te samen met poliomyelitisvirus gevonden. Ook GODENNE c.s. (1955) vonden bij enkele patiënten, lijdende aan meningitis, antilichamen tegen poliomyelitisvirus, hoewel dit virus niet gevonden werd. Enkele malen werd bij deze patiënten een ander virus geïsoleerd. GODENNE c.s. opperden twee mogelijkheden voor de aanwezigheid van deze antilichamen, 1^e er zou enig causaal verband bestaan tussen de aanwezigheid van complementbindende antilichamen tegen poliomyelitisvirus en de isolatie van een ander virus, door antigeen-verwantschap, 2^e de patiënten zouden toch een recente infectie met poliomyelitisvirus hebben doorgemaakt. De laatste mogelijkheid lijkt bij de hier besproken patiëntengroep — waarvan in tabel 30 een overzicht gegeven wordt — zeer aannemelijk.

Van 14 patiënten, bij wie Coxsackievirus werd gevonden (in 13 gevallen van groep A en één maal van groep B) werden sera onderzocht. Bij 4 mensen werden complementbindende antilichamen gevonden: één van hen had nauw contact gehad met een aantal kinderen, uit wier faeces poliomyelitisvirus werd gekweekt, terwijl uit de ontlasting van de overige drie patiënten ook poliomyelitisvirus type 1 geïsoleerd was. De aanwezigheid van antilichamen tegen poliomyelitisvirus kon dus in al deze gevallen verklaard worden.

Moeilijker is deze verklaring voor de bevindingen bij de 28 patiënten, die ECHO-virus met hun faeces bleken uit te scheiden en wier sera met de antigenen B werden onderzocht. Bij zes hunner werden complementbindende antilichamen gevonden; één van deze zes bleek tevens poliomyelitisvirus uit te scheiden, van drie anderen was bekend dat ze leden aan paralyse (lijkend op de paralytische vorm van poliomyelitis) en van de overige twee patiënten (lijdende aan meningitis) was van contact met poliomyelitisvirus niets bekend.

Daarentegen viel bij 22 patiënten (waarvan er twee leden aan paralyse) het virologische en serologische onderzoek op poliomyelitis negatief uit.

BLACK (1955) stelde de vraag of andere virussen dan poliomyelitisvirus

TABEL 30

Specificiteit der complementbindingsreactie naar klinisch-virologisch-serologische criteria.

Compl.b.r. met type 1	Coxs.virus geïsoleerd : 14		ECHO-virus geïsoleerd : 28		C.B.R. op bof positief : 5		C.B.R. tegen H.E.V. ³⁾ positief : 2	
	pos.	neg.	pos.	neg.	pos.	neg.	pos.	neg.
ook poliomyelitisvirus type 1 geïsoleerd	3	1	1	0	0	0	0	0
patiënten met para- lyse ¹⁾	0	3	3	2	0	0	0	0
contact met poliomyelitis- patiënt	1	0	0	5 ²⁾	0	0	0	0
van contact met poliomyelitis- niets bekend	0	6	2	15	1	4	0	2

1) Hierin zijn niet de paralytische patiënten, bij wie poliomyelitisvirus werd geïsoleerd, meegerekend.

2) Eén gezin uit het epidemiologisch onderzoek, vermeld op blz. 57.

3) Hepato-encephalitis virus.

mogelijk een rol kunnen spelen bij de vorming van complementbindende antilichamen tegen poliomyelitisvirus en meer in het bijzonder van de antilichamen tegen een ander dan het infecterende type. Hij zag namelijk bij gevallen van poliomyelitis ook heterotypische neutraliserende antilichamen, die echter niet altijd tegen hetzelfde type gericht waren als de heterotypische complementbindende antilichamen. MELNICK (1955) vroeg zich af of deze antilichamen zouden kunnen ontstaan tengevolge van een hypothetisch vierde type poliomyelitisvirus; hij vond namelijk bij gezonde kinderen in de zomermaanden een stijgende titer van complementbindende antilichamen, terwijl neutraliserende antilichamen niet aangetoond konden worden. SCHMIDT c.s. (1956) opperden de mogelijkheid, dat een dergelijke rol door virussen van de ECHO-groep wordt gespeeld.

De meest voor de hand liggende verklaring voor de aanwezigheid van complementbindende antilichamen tegen poliomyelitisvirus bij patiënten, die ECHO-virus bleken uit te scheiden lijkt ons evenwel gelegen in het vrijwel gelijktijdig voorkomen van twee epidemieën in Nederland, waarvan één door poliomyelitisvirus type 1 en de andere door ECHO-virus type 9 veroorzaakt werd. Uitblijven van een menginfectie bij — of van kort na elkaar tweemaal besmet worden van eenzelfde persoon met beide virussen in de zones waar de uitbreidingsgebieden der epidemieën elkaar raakten of in elkaar overgingen zou „verbazingwekkend” genoemd moeten worden.

Bij één van de patiënten met complementbindende antilichamen tegen een ander dan poliomyelitisvirus (in totaal 5 patiënten met antilichamen tegen bof- en twee patiënten met antilichamen tegen het zogenaamde

„hepato-encephalitisvirus”) werden ook complementbindende antilichamen tegen poliomyelitisvirus gevonden. Deze patiënt toonde meningitische verschijnselen na bof.

Het klinische criterium hebben wij tenslotte uitgebreid tot de klinische gegevens, die niet of niet geheel bij de ziekte van HEINE-MEDIN pasten. Hierdoor werd een controlegroep van 51 patiënten verkregen (inclusief de patiënten gegroepeerd onder het hoofd „andere diagnose dan poliomyelitis”) (tabel 31).

TABEL 31

Specificiteit der complementbindingsreactie naar klinische criteria.

	Complementbindingsreactie op poliomyelitis	
	positief	negatief
patiënten met meningitis gepaard gaande met exantheem en/of zeer hoog celgehalte van de liquor	0	15
patiënten met encephalitis postvacc., meningitis of encephalitis na andere infectieziekten	1 ¹⁾	10
patiënten met „andere ziekte dan poliomyelitis”	0	25

1) meningitis na bof.

Deze controlegroep bestond uit patiënten met meningitis of encephalitis met een zeer hoog celgehalte van de liquor en/of exantheem,

patiënten met meningitische of encephalitische verschijnselen door bof, mazelen of rode hond, ofwel met postvaccinale encephalitis en de patiënten samengebracht onder het hoofd „andere diagnose dan poliomyelitis”.

Bij één van de 51 patiënten (een patiënt die aan bof leed) werden complementbindende antilichamen tegen poliomyelitisvirus type 1 aangetoond.

Gezien de epidemiologische omstandigheden is hier de mogelijkheid groot, dat de patiënt behalve bof-meningitis een infectie met poliomyelitisvirus doormaakte of deze kort tevoren doorgemaakt had.

De conclusie die wij uit deze gegevens kunnen trekken is, dat een positieve complementbindingsreactie op poliomyelitis vrijwel steeds besmetting met poliomyelitisvirus aanwijst en dus in hoge mate specifiek is.

§ 2 *De typespecificiteit van de complementbindingsreactie op poliomyelitis*

Zoals reeds bekend, was het muizenhersenen-antigeen van CASALS in het geheel niet specifiek voor een bepaald type van poliomyelitisvirus,

een gelukkige omstandigheid aangezien in die tijd slechts type 2 geadapteerd was aan muizen.

Daarentegen heeft men steeds getracht van besmette celcultures antigenen van de drie types te verkrijgen, die zoveel mogelijk typespecifiek waren. Van het begin af hebben alle onderzoekers echter in een bepaald — in grootte verschillend — deel der onderzochte sera antilichamen gevonden gericht tegen een ander type dan het — blijkens virologisch onderzoek — infecterende type. Is het aantal sera met deze heterotypische antilichamen vermeld door deze auteurs, sterk verschillend, de heterotypische reacties worden ook niet even sterk veroordeeld.

Het aantonen van heterotypische complementbindende antilichamen kan aan twee factoren geweten worden:

1. Het antigeen, waarmee het serum onderzocht wordt, kan meer of minder typespecifiek zijn.
2. In het serum van de patiënt kunnen door verschillende oorzaken antilichamen voorkomen tegen andere types, dan het type waarmee hij geïnfecteerd raakte.

ad 1. Zo zou een groepsantigeen kunnen vrijkomen door verschillende wijzen van behandeling van geïnfecteerde celcultures. Dit zou kunnen gebeuren na verhitte, blootstelling aan ultraviolette stralen of door behandeling met formaline (LE BOUVIER 1955, SCHMIDT en LENNETTE 1956, BLACK en MELNICK 1955). In hoeverre de meningen van verschillende onderzoekers overeenstemmen wat betreft het effect van deze behandelingswijzen op de typespecificiteit, werd reeds eerder uiteengezet.

Ook door concentratie van antigenen zouden meer complementbindingsreacties heterotypisch verlopen (SCHMIDT en LENNETTE 1955). Volgens BLACK (1955) zou het ook mogelijk zijn, dat in de antigenen bestanddelen — van apen afkomstig — voorkomen, die valse heterotypische reacties te zien geven met een aantal sera. Hij vermeldt echter niet of getracht is deze mogelijkheid te elimineren door gebruik van controle-antigeen.

Zoals uit eigen waarnemingen bleek, zou het misschien ook mogelijk zijn, dat bestanddelen, voorkomend in de bovenstaande vloeistof van besmette cultures (afbraakproducten?) complement binden met serum.

Uitsluitsel hierover zou evenwel slechts verkregen kunnen worden door onderzoek naar neutraliserende antilichamen tegen het als controle gebruikte agens. Vreemd is in dit geval wel dat enkele van deze sera, later met een ander antigeen in quadraattitratie onderzocht, slechts complement bleken te binden met type 1 en dat slechts in enkele apesera, doch in geen enkel mensenserum met dezelfde antigenen deze heterotypische reactie opgemerkt werd. Men zou zich kunnen voorstellen, dat het ene antigeen in de complementtitratie meer complement bond dan het andere en de geringe complementgift de oorzaak was van de tritypische reacties. Aangezien

evenwel in zulk geval voor elk antigeen een verschillende hoeveelheid complement toegevoegd werd, mogen wij deze factor uitschakelen.

ad 2. Door de resultaten verkregen door vele onderzoekers is het thans wel zeer waarschijnlijk geworden dat de antilichaamreactie bij de mens op infectie met poliomyelitisvirus niet altijd beperkt blijft tot het type dat de infectie veroorzaakte. Dit geldt zowel voor complementbindende als neutraliserende antilichamen. (SABIN 1952, SVEDMYR c.s. 1952, 1953, LENNETTE en SCHMIDT 1955, 1957, BLACK c.s. 1954, BLACK 1955, MELNICK 1955, HENNESSEN 1955b, GODENNE c.s. 1955, MILLER c.s. 1956.) Het gedeelte der patiënten, in wier serum antilichamen tegen meer dan één type gevonden werden, blijkt bij vergelijking der resultaten van de verschillende onderzoekers — zelfs bij verschillende groepen van patiënten — aanmerkelijk uiteen te lopen.

Zo vond BLACK (1955) bij 80% van een bepaalde groep patiënten slechts complementbindende antilichamen tegen het homologe type, daarentegen in een andere groep, op 150 mijl van de eerste wonend, bij slechts 38%.

BLACK en MELNICK (1954) en GODENNE en RIORDAN (1955) zijn de enige onderzoekers, die bij enkele patiënten uitsluitend antilichamen tegen een ander dan het geïsoleerde type vonden. Door de overige auteurs werden steeds — indien heterotypische antilichamen voorkwamen — antilichamen tegen het homologe type gevonden.

SVEDMYR (1954) vond bij 10% van lijders aan poliomyelitis (met complementbindende antilichamen) slechts tegen 1 type gerichte antilichamen. In de onderzoeken van MELNICK (1954) was dit percentage 58%. SCHMIDT en LENNETTE (1956) vonden bij gebruik van onbehandeld antigeen heterotypische antilichamen bij één van de 18 onderzochte patiënten, met verhit antigeen bij 14 van de 18. Bij een later onderzoek (1957) werden — ook bij gebruik van onbehandeld antigeen bij 41% van de patiënten, besmet met type 1 antilichamen tegen de andere types gevonden. Bij enkele van deze patiënten bereikten de heterotypische antilichamen hogere titers dan de antilichamen tegen type 1.

De vorming van heterotypische complementbindende antilichamen zou anders verlopen dan de ontwikkeling van de antilichamen, gevormd tegen het homologe type. Van de eerste zou de titer (en de „aviditeit” volgens de berekening van BLACK en MELNICK) lager zijn en stationnair blijven; deze antilichamen zouden voorts eerder verdwijnen, daarentegen even vroeg als, of zelfs vroeger dan, de antilichamen tegen het homologe type aanwezig zijn.

Uit de literatuur zijn echter zeer vele uitzonderingen bekend, zodat in veel gevallen, waarbij antilichamen tegen meer dan één type gevonden werden, het infecterende type niet aan te wijzen zou zijn, indien virusisolatie niet beproefd zou zijn.

Oorzaken van de aanwezigheid van complementbindende antilichamen

tegen een ander type dan bij de patiënt geïsoleerd werd, zouden kunnen zijn:

- a. evenals het antigeen zouden de infecterende poliomyelitisvirus-stammen groepsantigeen kunnen bezitten.
- b. De complementbindende antilichamen kunnen nog aanwezig zijn van een vorige infectie of
- c. kunnen door anamnestiche reactie gevormd worden of
- d. kunnen een uiting zijn van gelijktijdige infectie met verschillende types.
- e. Misschien spelen infecties met andere virussen een rol bij de vorming van deze antilichamen, een punt dat reeds in de vorige paragraaf besproken werd.

De resultaten, verkregen door typering van vers geïsoleerde poliomyelitisvirus-stammen, zouden erop wijzen dat sommige van deze stammen een groepsantigeen bezitten.

Zo vond MELNICK (1955) dat zijn „standaardstammen” (Brunhilde, Mahoney, Y-SK, MEF, Leon en Saukett) monotypisch reageerden met standaard-antisera. Van 41 stammen die blijkens neutralisatie tot type 1 behoorden, bonden 54% complement met type 2 antiserum en 5% met antisera tegen type 2 en type 3, zij het in lagere titer dan met antiserum tegen type 1. Van de stammen behorend tot type 3, bleken 58% ditypisch (tegen type 3 en type 2) te reageren en 12% tritypisch.

Volgens MELNICK zou het mogelijk zijn dat stammen dit groepsantigeen door passage verliezen en dat aldus de standaardstammen „zuiver” zijn geworden.

Ook LE BOUVIER (1954) vond, dat vers geïsoleerde stammen complement bonden met antisera tegen andere types.

Infectie door een di- of tritypische stam zou dan aanleiding zijn tot de vorming van heterotypische antilichamen.

Heterotypische complementbindende antilichamen komen volgens MELNICK (1955) en McCALLUM (1955) frequenter voor bij volwassenen dan bij kinderen, hetgeen weer meer zou wijzen op de derde mogelijkheid: de anamnestiche reactie tengevolge van een vroegere infectie met een ander type.

Gelijktijdige infectie met twee types zal een zeer zeldzame gebeurtenis zijn; voorts is interferentie een bekend verschijnsel bij gelijktijdige besmetting van apen door twee types en het is nog onbekend hoe deze interferentie de vorming van complementbindende antilichamen beïnvloedt.

Uit het onderzoek van SCHMIDT en LENNETTE (1957), die een groep van patiënten gedurende 2 jaar na het begin van de ziekte onderzochten blijkt, dat complementbindende antilichamen tegen poliomyelitisvirus zeer lang in het serum aanwezig blijven, zodat de tweede mogelijkheid zeker oorzaak kan zijn van de aanwezigheid van complementbindende antilichamen tegen meer dan één type.

Niet alle onderzoekers zijn van mening dat heterotypische antilichamen een storend element zijn bij de serologische diagnostiek van poliomyelitis. Zo zou volgens GODENNE c.s. (1955) niet alleen een typespecifieke antilichaamreactie voor de diagnostiek waarde hebben, ook bij de niet typespecifieke reactie zou dit het geval zijn.

Ook LE BOUVIER (1954) meent dat de heterotypische antilichamen juist van waarde zijn voor de vroege diagnose.

Daarentegen kwamen MILLER c.s. (1956) tot de conclusie, dat juist door de mogelijkheid heterotypische antilichamen te vinden, de complementbindingsreactie weinig of niet bijdraagt tot de diagnostiek.

SCHMIDT en LENNETTE (1956) wezen op het gevaar, de diagnose uitsluitend te stellen op de aanwezigheid van complementbindende antilichamen; deze zijn niet noodzakelijkerwijze een uiting van de bestaande ziekte en kunnen een gevolg zijn van een tevoren opgedane besmetting. Verder vonden zij, dat de titers der antilichamen tegen een ander dan het infecterende type juist in het begin der ziekte soms hoger zijn dan die van de antilichamen tegen het infecterende type.

Uiteraard werkt de aanwezigheid van de heterotypische complementbindende antilichamen bijzonder storend bij epidemiologisch onderzoek.

Na deze opsomming van de bevindingen van anderen met betrekking tot dit onderwerp, is het opvallend dat wij slechts een gering aantal reacties vonden, die positief ten opzichte van meer dan één type uitvielen.

In dit verband dienen wij eerst terug te komen op de op bladzijde 13 gelanceerde opmerking ten aanzien van de complementgift bij gebruik van antigeen B: „... werden 2 eenheden gebruikt, nadat uit quadraattitraties van een aantal sera met stijgende hoeveelheden complement gebleken was dat toevoeging van 2 eenheden inderdaad de juiste dosering was in verband met de gewenste typespecificiteit.”

Door gebruik van een hogere complementdosis werden hier waarschijnlijk „heterotypische antilichamen” geëlimineerd. Zouden de sera genoemd in voorbeeld serum 127 met 1,5 E complement — de hoogste dosis gebruikt voor titratie met antigeen A — getitreerd zijn, dan zouden de uitkomsten van de sera 127 geweest zijn: tegen type 1 : 16 en 32 en tegen type 2 : 8 en 8. Hebben wij hier te maken gehad met a) — zwakke — typespecifieke antilichamen, overgebleven na een vroegere infectie met type 2; dit is onwaarschijnlijk, waar alle quadraattitraties op dezelfde wijze verliepen (meer complementbinding door lagere serumverduunningen en type 2 antigeen), b) een reactie veroorzaakt door een in geringe concentratie aanwezig groepsantigeen van het „soluble type”, of c) met een zwakke aspecifieke reactie? Aangezien wij niet beschikten over niet-besmette cultuurvloeistof als controle-antigeen behorend bij het antigeen B, kan niet met zekerheid een dezer mogelijkheden als redelijke verklaring gepresenteerd worden.

De in de tabellen vermelde heterotypische antilichamen, aangetoond met de antigenen B bleven dus aantoonbaar bij titratie met 2 eenheden complement.

Met het antigeen B werden complementbindende antilichamen tegen meer dan één type gevonden in de sera van 8 patiënten (32, 38, 73, 80, 85, 134, 290 en 375). Bij deze patiënten — met uitzondering van patiënt 38 — werd een hoge titer tegen type 1 gevonden en een lage titer tegen één of beide andere types. Uit de faeces van 3 patiënten werd type 1 geïsoleerd. Deze patiënten leverden dus geen diagnostisch problemen. Bij patiënt 38 — uit wiens faeces type 2 werd geïsoleerd — werden gelijke titers tegen de drie types gevonden. Herhaalde quadraattitraties leverden geen ander resultaat op. Twee patiënten uit wier faeces type 2 werd geïsoleerd (15 en 271) bezaten uitsluitend antilichamen tegen type 1; bij één van hen steeg de titer zelfs (271).

Te samen vormen deze 10 patiënten ruim 5% van het aantal, in wier serum de complementbindingsreactie positief uitviel.

Complementbindende antilichamen tegen meer dan één type werden met de antigenen A aangetoond bij 3 patiënten (114, 125 en 270) of 11% van het aantal patiënten met complementbindende antilichamen tegen deze antigenen.

Bij 2 van de 20 patiënten, uit wier faeces poliomyelitisvirus type 1 werd gekweekt, werden heterotypische antilichamen met de antigenen A gevonden, terwijl dit bij 3 van de 96 patiënten, wier serum met de antigenen B werd onderzocht, het geval was.

Vergeleken met de bevindingen van andere auteurs, werden dus weinig heterotypische reacties op infectie met type 1 waargenomen.

In het voorgaande werden de mogelijkheden genoemd, welke aanleiding zouden kunnen geven tot de aanwezigheid van complementbindende antilichamen voor meer dan 1 type. Door de omstandigheid dat verscheidene sera getitreerd werden tegen beide antigeensoorten, is het mogelijk te onderzoeken in hoeverre heterotypische antilichamen, aangetoond met de ene antigeensoort, ook gevonden werden met de andere.

Met de antigenen B werden in de sera van patiënten 125 en 270 alleen antilichamen tegen type 1 gevonden. (De sera van deze patiënten bevatten — met antigeen A getitreerd — ook antilichamen tegen resp. type 3 en type 2.) Met de antigenen A daarentegen werden slechts antilichamen gevonden tegen type 1 bij patiënt 134, wiens serum bij titratie met de antigenen B ook antilichamen tegen type 2 bleek te bevatten. Persistentie van antilichamen, anamnestiche reactie, gelijktijdige infectie met verschillende types leveren geen van alle een aannemelijke verklaring voor de aanwezigheid van antilichamen tegen een ander type dan type 1. Redelijkerwijs zou immers verwacht mogen worden dat deze antilichamen met beide antigeensoorten gevonden zouden zijn; in ieder geval dat de met antigenen A aangetoonde antilichamen ook met antigenen B gevonden zouden worden.

Ditzelfde geldt voor de mogelijkheid dat het antigeen di- of tritypisch zou zijn. De van deze 3 patiënten afgenomen sera werden namelijk getitreerd ten opzichte van antigenen bereid uit standaardstammen. Dergelijke resultaten zouden voorts in meer sera gevonden zijn.

Dat het infecterende type ditypisch zou zijn is evenmin aan te nemen aangezien hiertegen gevormde antilichamen dan niet alleen met antigenen A, maar ook met antigenen B gevonden zouden zijn.

Daarenboven werden in dezelfde woonplaats en omstreeks dezelfde tijd (eind mei- begin juni, dus reeds vroeg in het seizoen) als de patiënten 125 en 270, een aantal kinderen ziek (94, 95, 107, 109, 118, 127, 130, 158 en 159) in wier sera slechts complementbindende antilichamen tegen type 1 werden gevonden. Verschil in infecterende stam is niet onmogelijk, wel onaanneemelijk.

Ook mogelijke fouten in de uitvoering komen niet als verklaring in aanmerking. Een aantal van deze reacties is herhaald, waarvan eenzelfde resultaat het gevolg was. Dit was zeker het geval voor de eerste sera (uit hier vermelde serumparen), die eerst afzonderlijk, later nog eens met het bijbehorende tweede serum werden getitreerd.

Het voorkomen van antilichamen tegen de heterologe types in die gevallen, waar controle mogelijk was, moet dus onverklaard blijven.

VI

VERDELING DER RESULTATEN NAAR DE LEEFTIJDEN DER PATIËNTEN

Tot slot van dit onderzoek hebben wij nagegaan hoe de leeftijdsverdeling was van de patiënten met paralyse of meningitis en hoe de positieve resultaten van het virologische en het serologische onderzoek naar leeftijd verdeeld waren.

Het aantal patiënten met paralyse, van wie ons de leeftijd bekend was bedroeg 149. Drie en zestig procent van deze patiënten was 4 jaar oud of jonger; 90% bleek jonger dan 9 jaar te zijn. In figuur 13 wordt de leeftijdsverdeling van de paralytische patiënten door de cumulatieve curve a weergegeven.

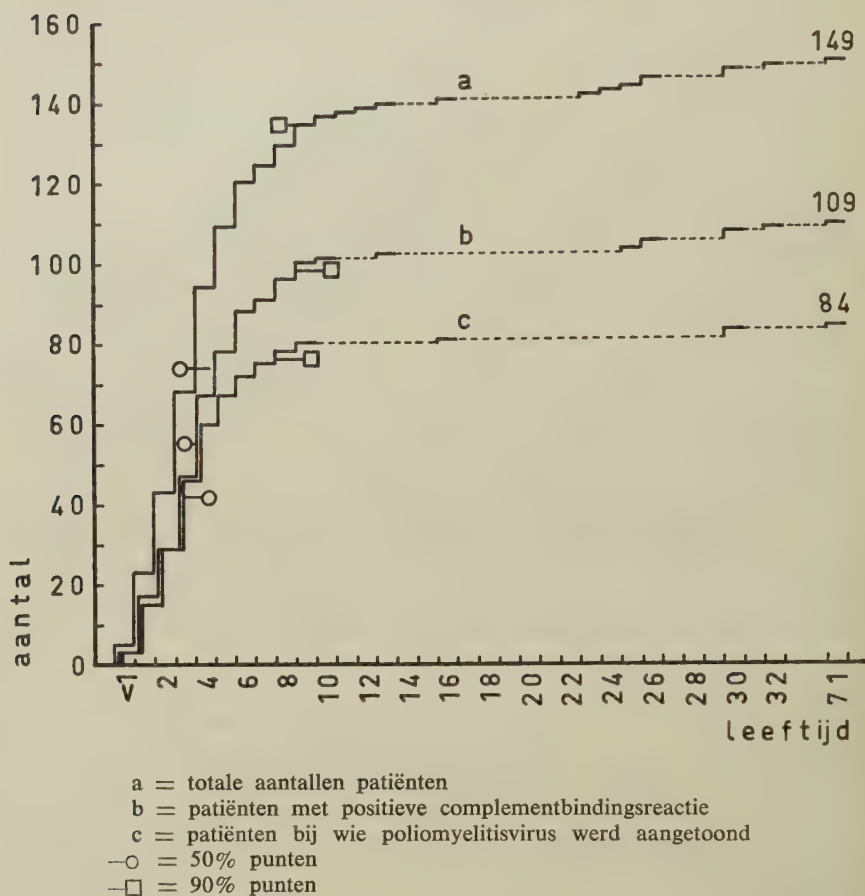
Curve b in deze figuur toont de aantallen paralytische patiënten met positieve complementbindingsreactie (in totaal 109 patiënten). Een en zestig procent van deze patiënten was 4 jaar oud of jonger en 92% was jonger dan 9 jaar. Curve c is een weergave van de patiënten met paralyse, bij wie poliomyelitisvirus werd geïsoleerd (in totaal 84 patiënten). Twee en negentig procent van deze patiënten was 8 jaar of jonger; 71% 4 jaar of jonger.

De leeftijdsverdeling der patiënten met complementbindende antilichamen bleek vrijwel gelijk te zijn aan die van het totale aantal paralytische patiënten; de patiënten bij wie poliomyelitisvirus werd aangetoond, behoorden tot iets jongere leeftijdsklassen.

In deze curves zijn alle paralytische patiënten met ons bekende leeftijd ondergebracht.

Aangezien van een aantal patiënten geen virologisch faecesonderzoek werd verricht, hebben wij de leeftijdsverdeling nagegaan van de paralytische patiënten bij wie zowel virologisch als serologisch onderzoek werd verricht. In totaal werden 137 patiënten met paralyse virologisch én serologisch onderzocht. De leeftijdsverdeling van het totale aantal dezer paralytische patiënten en van de patiënten met positieve complementbindingsreactie verschilde niet van de bovenvermelde distributie, terwijl het kleine verschil in leeftijd met de patiëntenvirusuitscheiders bleef bestaan. Van deze patiënten zijn de aantallen in de figuur 14 naar leeftijd weergegeven (alle paralytische patiënten bij wie virologisch en serologisch onderzoek werd gedaan, de patiënten bij wie complementbindende antilichamen werden gevonden en de patiënten bij wie poliomyelitisvirus werd aangetoond). In deze figuur is te zien dat na het 3e levensjaar complementbin-

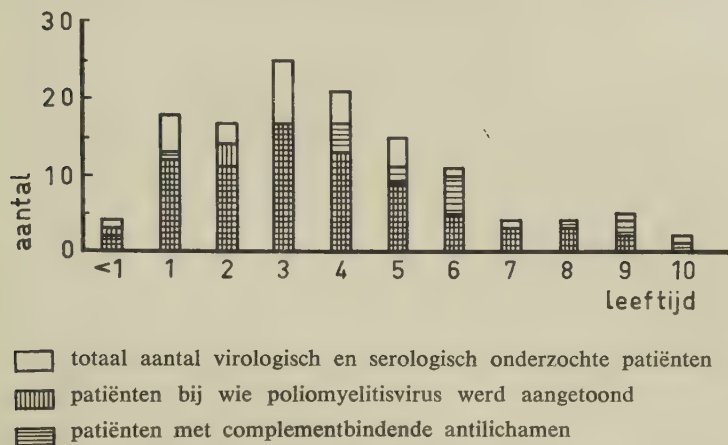
FIG. 13. CUMULATIEVE AANTALLEN PARALYTISCHE
PATIËNTEN NAAR LEEFTIJD



dende antilichamen bij een groter gedeelte der patiënten werden aangetoond dan het geval was met de isolatie van poliomyelitisvirus. Hieruit een algemene conclusie te trekken lijkt ons door het geringe aantal patiënten in de hogere leeftijdsklassen niet mogelijk, te meer waar een der belangrijkste factoren, de tijd tussen het begin van de ziekte en de afname van materiaal voor virologisch onderzoek ons meestal niet bekend was.

De leeftijdsverdeling van patiënten, met verschijnselen van meningitis wordt weergegeven in figuur 15. Van 125 patiënten was ons de leeftijd bekend. Vijftig procent der patiënten waren 6 jaar of jonger, terwijl 90% 21 jaar of jonger waren, zoals uit de curve a blijkt. Aan dit ziektebeeld leden niet alleen de jonge kinderen maar ook een groot aantal adolescen-

FIG. 14. AANTALLEN VIROLOGISCH EN SEROLOGISCH ONDERZOCHE PARALYTISCHE PATIËNTEN PER JAARKLASSE



ten (terwijl in de groep der paralytische patiënten het gedeelte der 9 jaar ouderen of ouderen 10% bedroeg, was dit percentage bij de patiënten met meningitis 32%).

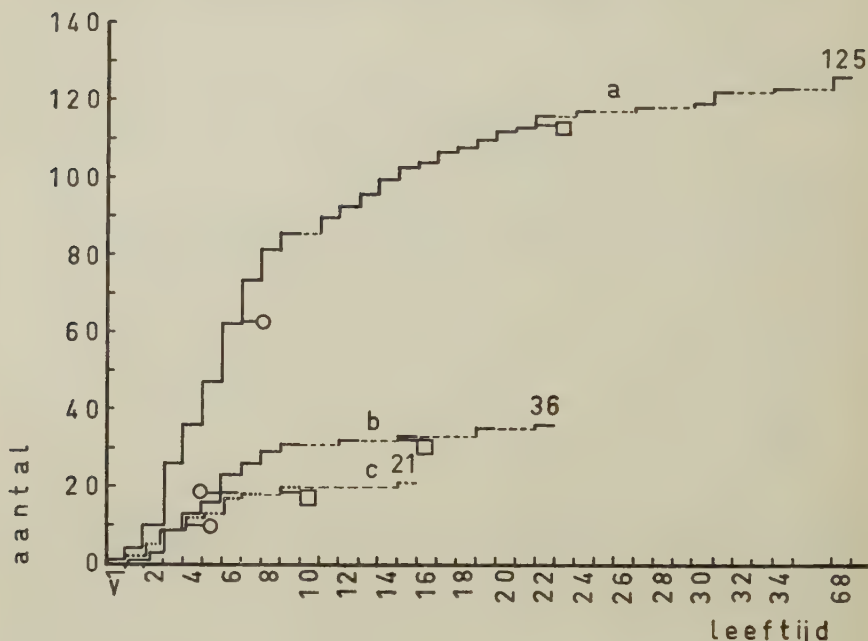
Het aantal patiënten bij wie poliomyelitisvirus werd geïsoleerd, wordt weergegeven door curve c en het aantal patiënten met een positieve complementbindingsreactie door b. Deze curves tonen nogmaals dat een groot aantal gevallen van abacteriële meningitis waarschijnlijk een andere aetologie dan infectie met poliomyelitisvirus heeft gehad, zoals reeds vermeld werd (het totale aantal patiënten met ons bekende leeftijd, bij wie door virologisch en/of serologisch onderzoek waarschijnlijk werd gemaakt dat de meningitis op infectie met poliomyelitisvirus berustte bedroeg: 40).

De curve b geeft aan, dat de patiënten met complementbindende antilichamen tot iets oudere leeftijdsklassen behoorden dan de paralytische patiënten met positieve complementbindingsreactie.

In het algemeen bleek de leeftijdsverdeling van alle patiënten en gezonde contactpersonen met complementbindende antilichamen echter parallel lopen aan die van de virusuitscheiders, zoals figuur 16 weergeeft, zij het op hoger niveau. Curve a toont alle personen met complementbindende antilichamen; curve b is een weergave van alle personen bij wie poliomyelitisvirus werd geïsoleerd. Deze curves verschillen sterk van de curve, die de leeftijdsverdeling van alle onderzochte personen weergeeft (hier niet getekend).

Bij 16 personen met complementbindende antilichamen werd het virologisch onderzoek niet verricht, wat de verhouding der in beide curves weergegeven aantallen ten nadele van de getoonde virusisolaties beïnvloedt.

FIG. 15. CUMULATIEVE AANTALLEN PATIËNTEN
MET MENINGITIS NAAR LEEFTIJD



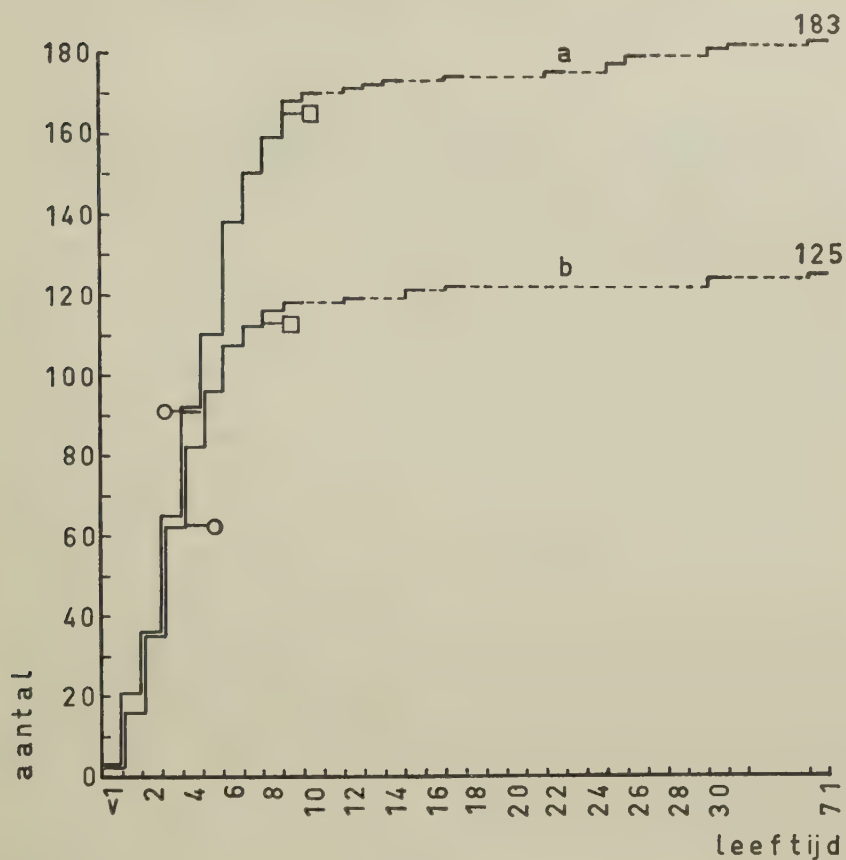
- a = totale aantallen patiënten
- b = patiënten met positieve complementbindingsreactie
- c = patiënten bij wie poliomyelitisvirus werd aangetoond
- = 50% punten
- = 90% punten

Uit de resultaten van het onderzoek van gezonde contactpersonen overigens verricht op geselecteerd materiaal, namelijk leerlingen van kleuter- en lagere scholen en hun familieleden, bleek dat 50% van de serologisch onderzochte personen ouder waren dan 10 jaar. Bij 3 dezer werden complementbindende antilichamen aangetoond, terwijl dit bij 26 van de 54 kinderen van 10 jaar of jonger het geval was. Vijftig procent van de mensen met complementbindende antilichamen bleken jonger dan 6 jaar te zijn.

Uit dit overzicht blijkt dat vooral de jonge kinderen (voor 90% jonger dan 9 jaar) — al of niet lijdende aan een der vormen van poliomyelitis — geïnfecteerd werden.

De leeftijdsverdeling van alle gevallen van poliomyelitis in de epidemie van 1956 is ons niet bekend. Bij de beschouwing van de leeftijdsverdeling van de door ons onderzochte patiënten schijnt het ons redelijk toe te veronderstellen, dat deze patiënten niet door andere factoren dan die welke

FIG. 16. CUMULATIEVE AANTALLEN NAAR LEEFTIJD VAN ALLE PATIËNTEN EN GEZONDE CONTACTPERSONEN



a = patiënten en contactpersonen met positieve complementbindingsreactie

b = patiënten en contactpersonen bij wie poliomyelitisvirus werd aangetoond

—○ = 50% punten

—□ = 90% punten

gelden voor het totaal aantal patiënten, naar leeftijd geselecteerd werden. Indien deze selectie inderdaad niet heeft plaats gehad, is het hier beschreven materiaal representatief voor het totaal aantal gevallen in de epidemie van 1956.

SAMENVATTING EN CONCLUSIES

In een onderzoek naar de betekenis van de complementbindingsreactie voor de diagnostiek van poliomyelitis werden zelfbereide weefselcultuur-antigenen (antigenen A), zowel als commerciële antigenen (antigenen B) gebruikt, beide verhit. De antigenen A waren, in onverhitte toestand, dikwijls anticomplementair en over het algemeen zo zwak, dat zij onverdund moesten worden gebruikt. De anticomplementaire eigenschap verdween, niet alleen door verhitting, doch ook door menging met een volgens DE BOER en COX bereid antigeen van normale muizehersenen.

Bij serumtitraties ten opzichte van de antigenen A werd gebruik gemaakt van een complementdosis van 1,25 — 1,5 eenheden, ten opzichte van de antigenen B een dosis van 2 eenheden.

Behalve de gebruikelijke titratiemethode met oplopende serumverduningen werd een methode beproefd met wisselende hoeveelheden complement. In het laatste geval werd als maat van complementbinding het quotiënt van het complementverbruik van het te onderzoeken serum en van een bekend negatief serum aangenomen. Dit quotiënt is echter een relatieve grootheid, die o.a. afhankelijk is van de in het haemolytische systeem aanwezige schapeërythrocyten, het gedrag van het negatieve serum ten opzichte van het complement en de sterkte van het antigeen. Daar de quotiëntwaarden te sterk door deze factoren werden beïnvloed, konden ze niet als een betrouwbare maatstaf voor de complementbinding worden gebruikt en deze methode is dan ook verlaten.

Bij een onderzoek van het serum van 36 Cynomolgus-apen, die waren gevaccineerd met de nagenoeg avirulente LS-c variant van de Mahoney-stam (type 1), bleek geen der sera positief te zijn enkele dagen na de vaccinatie. Enkele weken later was 21% positief ten opzichte van het homologe type. Een hoger percentage positieve sera werd gevonden bij 43 apen, die alle met de virulente Mahoney-stam per os waren besmet. Een deel van deze apen was tevoren gevaccineerd met de LS-c variant. Complementbindende antilichamen tegen het homologe type werden aangetoond bij 95% van de apen. Bij 41 % waren echter ook antilichamen tegen één of beide andere types aanwezig.

Voorts werd serum onderzocht van 359 patiënten, die verdacht waren lijdende te zijn aan een of andere vorm van poliomyelitis en van 126 gezonde contactpersonen. Van de patiënten hadden er 160 een paralytische vorm, 134 hadden meningitische verschijnselen, 19 hadden encephalitis, 21 leden aan een klinisch als abortieve poliomyelitis gediagnosticeerde vorm en bij 25 patiënten werd in het ziektebeloop de diagnose poliomyelitis losgelaten. Met behulp van de antigenen A werden complementbindende

antilichamen aangetoond bij 34% van de paralytische, 3% van de meningitische gevallen, bij 1 van de 17 encephalitis-patiënten en bij 1 van de 12 patiënten met een abortieve vorm. De antigenen B leverden de volgende positieve resultaten op: 76% van de paralytische, 31% van de meningitische gevallen, 2 van de 8 encephalitispatiënten en 7 van de 19 patiënten met een abortieve vorm.

Bij 39% van de 57 patiënten, waarbij de uitscheiding van poliomyelitisvirus was vastgesteld, konden met de antigenen A complementbindende antilichamen worden aangetoond. Met de antigenen B was dit het geval bij 80% van de 123 patiënten. Het verschil tussen beide antigeensoorten kon voor een groot deel worden teruggebracht tot een verschil in tijdsduur tussen het begin van de ziekte en het ogenblik waarop antilichamen konden worden aangetoond. Met de antigenen A konden niet vroeger dan op de 12e ziektedag complementbindende antilichamen worden aangetoond, met de antigenen B reeds op de 5e ziektedag.

Wanneer meer dan 1 serummonster van een patiënt, virusuitscheider, kon worden onderzocht, werden met de antigenen A in 79% en met de antigenen B in 89% der gevallen complementbindende antilichamen aangetoond.

Uitscheiding van poliomyelitisvirus werd vastgesteld bij 65% van de patiënten die, onverschillig of de antigenen A of B werden gebruikt, een 4- of meervoudige titerstijging toonden.

Voor zover de reactie positief was, werd zij zeer specifiek bevonden. Zij was bij geen van de 25 patiënten, die volgens klinische criteria niet lijdende waren aan een of andere vorm van poliomyelitis, positief. De reactie was soms positief bij patiënten, uit wier faeces ECHO 9 virus was geïsoleerd, maar dan waren zij lijdende aan een paralytische vorm of er werd tevens poliomyelitisvirus in de faeces gevonden, zodat er toch alle reden was om een gemengde infectie aan te nemen. Hetzelfde gold voor patiënten uit wier faeces Coxsackievirus was geïsoleerd.

In verreweg de meeste gevallen werden alleen homotypische antilichamen gevonden. Indien heterotypische antilichamen aanwezig waren, was, op een enkele uitzondering na, de titer lager dan die van de homotypische.

De 50% en 90% punten in de cumulatieve frequentiecurves, opgesteld naar de leeftijd van de patiënten, lagen voor de paralytische gevallen, de patiënten met een positieve complementbindingsreactie en de patiënten waarbij virus in de faeces was aangetoond, ongeveer in dezelfde leeftijdsklassen, n.l. van 3-4 en van 8-9 jaar. Voor de patiënten met meningitis, waarvan er in 1956 zeer vele door het ECHO 9 virus zijn veroorzaakt, lagen deze punten hoger, n.l. 6-7 en 15-21 jaar.

Conclusies.

De complementbindingsreactie bij poliomyelitis is groepspecifiek, meestal ook typespecifiek.

Afhankelijk van de soort en de bereidingswijze van het antigeen zijn complementbindende antilichamen 2-3 weken na het begin van de ziekte aantoonbaar, zodat bij het onderzoek van serum in de eerste ziektedagen en van 2-3 weken later afgenomen serum in de regel een titerstijging kan worden waargenomen.

De uitslag van de reactie is een waardevolle aanvulling van het virologisch-diagnostische onderzoek. Voor epidemiologisch onderzoek heeft de reactie betekenis voor het opsporen van recent geïnfecteerde, gezonde contactpersonen.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

In an investigation into the significance of the complement fixation reaction in the diagnosis of poliomyelitis, antigens prepared from tissue cultures (antigens A) and commercially prepared antigens (antigens B) were used. The antigens A were frequently anticomplementary and of such a low potency, that they had to be used undiluted. The anticomplementary property could be eliminated either by heating, or by adding antigen prepared from normal mouse brain according to DE BOER and COX.

In titrations with the antigens A, 1.25 to 1.5, and in titrations with the antigens B, 2 units of complement were used.

Besides the usual method with serial dilutions of serum, a method using varying amounts of complement was tested. In the latter, the complement fixation titre was determined by the ratio between the use of complement by the patient's serum and by a known negative serum. This ratio, however, appeared to be dependent on the sheep red cells present in the haemolytic system, the behaviour of the negative serum in relation to the complement, and the potency of the antigen in such an extent, that the values obtained were unreliable.

When examining serum of 36 *Cynomolgus* monkeys that had been vaccinated with the almost avirulent LS-c variant of the Mahoney strain (type 1), none of the sera proved positive a few days after vaccination. A few weeks later, 21 per cent of the sera was positive against the homologous type. A higher percentage of positive sera was found in 43 monkeys that had been infected with the Mahoney strain by oral route. A number of these monkeys had previously been vaccinated with the LS-c variant. Homotypic complement-fixing antibody was demonstrated in 95 per cent of the animals. Forty-one per cent of them, however, also possessed heterotypic antibody.

Human sera collected from 359 patients suffering from various forms of poliomyelitis and from 126 healthy contacts were examined. Of these patients, 160 were suffering from a paralytic attack, 134 showed a syndrome of aseptic meningitis, 19 had symptoms of encephalitis, 21 had only minor illness, and in 25 patients the clinical diagnosis of poliomyelitis was abandoned in the course of the illness. With the antigens A, complement-fixing antibody was demonstrated in 34 per cent of the paralytic cases, in 3 per cent of the meningitic cases, in 1 out of 17 patients with encephalitis and in 1 out of 12 patients with minor illness. The antigens B yielded the following positive results: 76 per cent of the paralytic cases, 31 per cent of the meningitic cases, 2 out of 8 patients with encephalitis and 7 out of 19 patients with minor illness.

The reaction with antigens A was positive in 39 per cent of 57 patients excreting poliomyelitis virus and that with antigens B was positive in 80 per cent of 123 patients excreting the virus. The difference between the two antigens could largely be traced back to a different interval between the onset of the disease and the time at which antibody could be demonstrated. When using antigens A, antibody could be demonstrated as late as the 12th day and when using antigens B, as early as the 5th day.

When more than one serum sample from a patient who excreted virus could be examined, complement-fixing antibody against antigens A was demonstrated in 79 per cent of the cases, and that against antigens B in 89 per cent.

Excretion of poliomyelitis virus was determined in 65 per cent of the patients showing a fourfold or greater rise in titre, irrespective of the use of the antigens A or B.

A positive complement fixation reaction was found to be highly specific. The reaction was positive in none of 25 patients who were, according to clinical criteria, not suffering from any form of poliomyelitis. Sometimes a positive reaction was observed in patients from whom either ECHO 9 virus or Cocksackie virus had been isolated. These patients, however, were either suffering from a paralytic attack, or their stools yielded also poliomyelitisvirus, which is indicative for a mixed infection.

Homotypic antibody only was found in the vast majority of the cases. The titre of heterotypic antibody, if present, was usually lower than that of homotypic antibody.

The 50 per cent and 90 per cent points in cumulative frequency curves according to age were in paralytic cases, in patients showing a positive complement fixation reaction and in patients whose stools yielded poliomyelitis virus approximately in the same age groups: 3 to 4 and 8 to 9 years. In patients suffering from meningitis, which was, in 1956, largely due to ECHO 9 virus, these points were at a higher level: 6 to 7 and 15 to 21 years.

Conclusions.

The complement fixation reaction in poliomyelitis is group-specific, and usually type-specific.

Dependent on the antigen, complement-fixing antibody is demonstrable 2 to 3 weeks after onset of the disease. At examination of serum samples collected during the first days of illness and 2 to 3 weeks later, a rise in titre can usually be shown.

The complement fixation reaction is a valuable additional tool in virological diagnosis of poliomyelitis. In epidemiological research, the reaction is important for the recognition of recently infected healthy individuals.

LITERATUUR

- Albano, A.: Archives für die gesamte Virusforschung, 1957, 7, 494.
- Armstrong, C.: Public Health Reports, 1939, 54, 1719.
- Baumeister, J., Miller, C. A.: Journal of Infectious Diseases, 1956, 98, 27.
- Black, F. L.: Annals of the New York Academy of Sciences, 1955, 61, 781.
- Black, F. L., Melnick, J. L.: Yale Journal of Biology and Medicine, 1954, 26, 385.
- Black, F. L., Melnick, J. L.: Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1955, 89, 353.
- Bodian, D.: l.c. Reimann, H. A.: A.M.A. Archives of Internal Medicine, 1957, 99, 968.
- De Boer, C. J., Cox, H. R.: Journal of Immunology, 1947, 55, 193.
- Borghans-Delvaux, J. M., Borghans, J. G. A., Hofman, B., Kret, A., In 't Veld, A., Verlinde, J. D.: Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde, 1957, 29, 1354.
- Bos, G. J.: Proefschrift Leiden, 1958.
- Le Bouvier, G. L.: Journal of Experimental Pathology, 1953, 34, 300.
- Le Bouvier, G. L.: The Lancet, 1955, 2, 1013.
- Casals, J.: 2d International Poliomyelitis Conference, Copenhagen, 1951. Papers and Discussions, 1952, p. 177.
- Casals, J., Olitsky, P. K.: Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1949, 70, 339.
- Casals, J., Olitsky, P. K.: Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1950, 75, 315.
- Casals, J., Olitsky, P. K., Anslow, R. O.: Journal of Experimental Medicine, 1951a, 94, 111.
- Casals, J., Olitsky, P. K., Anslow, R. O.: Journal of Experimental Medicine, 1951b, 94, 123.
- Casals, J., Olitsky, P. K., Sabin, A. B.: Journal of Experimental Medicine, 1952a, 96, 35.
- Casals, J., Olitsky, P. K., Sabin, A. B.: Journal of Experimental Medicine, 1952b, 96, 55.
- Casals, J., Olitsky, P. K.: Archive für die gesamte Virusforschung, 1952c, 4, 452.
- Fulton, F., Dumbell, K. R.: Journal of General Microbiology, 1949, 3, 97.
- Godenne, M. O., Riordan, J. T.: Journal of the American Medical Association, 1955, 158, 707.
- Gorter, E., De Graaff, W. C.: Klinische Diagnostiek, 1956, Stenfert Kroese, Leiden.
- Harrison, J. A.: Journal of Immunology, 1939, 37, 233.
- Hennessen, W.: Zeitschrift für Hygiene, 1955a, 141, 557.
- Hennessen, W.: Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1955b, 80, 1044.
- Hennessen, W.: German Medical Monthly, 1956, 7, 204.
- Kolmer, J. A., Rule, A. M.: Journal of Immunology, 1935, 29, 199.

- Kolmer, J. A., Spaulding, E. H., Robinson, H. W.: *Approved Laboratory Technic*, 5th Edition, Appleton Century Crofts Inc., New York 1951.
- Lahelle, O.: 2d International Poliomyelitis Conference, Copenhagen, 1951. Papers and Discussions 1952, p. 456.
- Lahelle, O.: *American Journal of Hygiene*, 1951, 54, 391.
- Lennette, E. H., Schmidt, N. J.: *American Journal of Hygiene*, 1957, 65, 210.
- Lépine, P., Sautter, V., Delpy, J., Artzet, F.: *Annales de l'Institut Pasteur*, 1953, 84, 684.
- Lépine, P., Sohler, R.: *Technique de Laboratoire des Maladies à Virus*, Paris; Masson et Cie, 1954.
- Mayer, M. M., Osler, A. G., Bier, O. G., Heidelberger, M.: *Journal of Experimental Medicine*, 1946, 84, 535.
- Melnick, J. L.: *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1955, 89, 131.
- Melnick, J. L.: *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1955, 61, 1005.
- Melnick, J. L., McCarroll, J. R., Horstmann, D. M.: *American Journal of Hygiene*, 1956, 63, 95.
- Melnick, J. L., Ramoz-Alvarez, M., Black, F. L., Girardi, A. J., Nagaki, D.: *Yale Journal of Biology and Medicine*, 1954, 26, 465.
- Miller, C. A., Baumeister, J.: *Pediatrics*, 1955, 15, 392.
- Neustaedter, M., Banzhaf, E. J.: *Journal of Infectious Diseases*, 1917, 21, 515.
- Pollard, M.: *Journal of Immunology*, 1951, 67.
- Pollard, M.: *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1951, 78, 388.
- Pollard, M.: *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1952, 79, 514.
- Pollard, M., Hsiang, C. M., Sharp, G. R.: *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1952, 79, 48.
- Rimbaud, L.: *Précis de Neurologie*, Gaston Doin et Cie, Paris 1948, p. 555.
- Sabin, A. B.: *Journal of Experimental Medicine* 1952, 96, 99.
- Schmidt, N. J., Lennette, E. H.: *Journal of Experimental Medicine*, 1955, 102, 133.
- Schmidt, N. J., Lennette, E. H.: *Journal of Experimental Medicine*, 1956, 104, 99.
- Schmidt, N. J., Lennette, E. H., Doleman, J. H., Hagens, S. J.: *American Journal of Hygiene*, 1957, 66, 1.
- Svedmyr, A.: *Nordisk medicin*, 1954, 52, 1686.
- Svedmyr, A.: *Nordisk medicin*, 1955, 54, 1081.
- Svedmyr, A., Enders, J. F., Holloway, A.: *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1952, 79, 296.
- Svedmyr, A., Enders, J. F., Holloway, A.: *American Journal of Hygiene*, 1953, 57, 60.
- Svedmyr, A., Melèn, B., Kjellèn, L.: *Acta Medica Scandinavica*, 1956, 154, 316.
- Tongeren, H. A. E. van, Tiddens, H. A. W. M.: *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde*, 1957, 101, 579.
- Verlinde, J. D., Hofman, B.: *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde*, 1956, 100, 31.
- Wadsworth, A., Maltaner, F., Maltaner, E.: *Journal of Immunology*, 1938, 35, 217.
- Walsh, F. B. *Clinical Neuro-Ophthalmology*, Williams and Wilkins, Baltimore, 1947.

Curriculum vitae:

Julienne Marie Delvaux doorliep een gedeelte der middelbare school te Brussel en deed in 1946 eindexamen H.B.S. te Haarlem. Zij studeerde medicijnen aan de Rijksuniversiteit te Leiden, werd tot arts bevorderd in 1955 en was vervolgens anderhalf jaar werkzaam als assistente in de Afdeling voor Medische Microbiologie van het Nederlands Instituut voor Praeventieve Geneeskunde aldaar.

Zij vertrok in 1956 naar Curaçao.

DRUK: N.V. V.H. BATTELJEE & TERPSTRA — LEIDEN

STELLINGEN

1. De complementbindingsreactie zal pas dan een waardevolle aanvulling voor de diagnostiek van poliomyelitis kunnen zijn, indien men beschikt over niet-anticomplementaire antigenen die in voldoende mate verdund kunnen worden.
2. Het is waarschijnlijk dat enterale virussen, die niet tot de poliomyelitisgroep behoren, het centrale zenuwstelsel kunnen binnendringen.
3. In verband met het relatief grote aantal „vreemdelingen” lijdende aan tuberculose op de Nederlandse Antillen, dient te worden voorzien in een bepaling, houdende dat „ieder die zich metterwoon vestigt in de Nederlandse Antillen, bij aankomst in het bezit moet zijn van een recente, door een ter zake erkend specialist vervaardigde röntgenfoto van de thorax, en een door hem afgegeven verklaring betreffende de bevindingen van de röntgenologische doorlichting van dit lichaamsdeel”.
4. Bij brakende zuigelingen, bij wie de diagnose „hernia hiatus oesophagi” van het zogenaamde „sliding” type wordt gesteld, is de enig goede therapie de conservatieve, waarbij het kind zonder onderbreking de zittende houding bewaart.
5. Ruggemergsafwijkingen ten gevolge van spondylosis cervicalis worden niet alleen veroorzaakt door directe compressie, maar voornamelijk door stoornissen in de bloedvoorziening van het ruggemerg.
6. Het systeem van gouvernementsgeneeskundigen, tot wie in de Nederlandse Antillen personen, die recht hebben op vrije geneeskundige behandeling, zich uitsluitend kunnen wenden, dient als verouderd te worden beschouwd.
7. Er is reden tot twijfel of de opvatting, dat de reflex van BREUER en HERING bij de mens niet aanwezig is, juist is.
8. Het mededelen van klinische gegevens is een zeer gewenst onderdeel van de aanvraag tot bacteriologisch en virologisch onderzoek.
9. Waar afkortingen zoveel mogelijk dienen te worden vermeden, valt het te betreuren dat het „Virus Subcommittee of the International Nomenclature Committee of the International Congress of Microbiology” de term „poliovirus” heeft aanbevolen.
10. De veiligheidsmaatregelen bij snelheidswedstrijden voor motoren en auto's dienen te worden herzien en uitgebreid.

